

令和元年6月25日現在

機関番号：72504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09771

研究課題名(和文)2型糖尿病の膵島リモデリングの解析と分化転換(化生)能の制御の試み

研究課題名(英文) Analysis of islet remodeling in type 2 diabetes and exploratory regulation of endocrine cell transdifferentiation (metaplasia)

研究代表者

八木橋 操六 (Yagihashi, Soroku)

公益財団法人額田医学生物学研究所・その他部局等・その他

研究者番号：40111231

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：2型糖尿病の膵島病理の特徴として、細胞減少、細胞増加、アミロイド沈着がある。これらの変化が糖尿病の病態や予後にいかに関与するかは分かっていない。本研究では、剖検で得られた2型糖尿病の膵標本60例を用いアミロイド蓄積状況と膵島内分泌細胞変化を検討し、臨床病態といかに関わっているかをみた。アミロイドをチオフラビン染色で、内分泌細胞を免疫4重染色にて同定しそれらを組織定量的に解析した。その結果、アミロイド沈着は、細胞、細胞をともに減少させ、膵島の内分泌細胞リモデリングを干渉していた。すなわち、アミロイドは膵島微小環境を破壊し、膵島予備能を減少させ、2型糖尿病の病態を悪化させている可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究により、日本人2型糖尿病の膵島でのアミロイド沈着が膵島リモデリングによる病態修復機構を干渉し、糖尿病病態を悪化、進展させている可能性が示された。脂質異常やインスリン抵抗性はアミロイド沈着と密接に関連しており、その抑制は糖尿病進展の抑制へとつながる。今回の研究成果は、2型糖尿病の新しい治療方向として、糖・脂質代謝と関連するインスリン抵抗性の改善、アミロイド沈着抑制による膵島微小環境の保護など有益である可能性を示すものである。

研究成果の概要(英文)：Islet pathology in human type 2 diabetes is exemplified by beta-cell depletion and relative alpha-cell expansion as well as amyloid deposition. It is yet to be clear how these changes reflect clinical profile or predict the prognosis. In this study, we studied islet amyloid deposition and endocrine cell composition in 60 autopsy cases with type 2 diabetes and their correlation with clinical parameters. Islet pathology was morphometrically analyzed on pancreas sections stained with thioflavin to identify amyloid or with immunostains for endocrine cell discrimination. As results, amyloid deposition was associated with augmented reduction of both beta-cells and alpha-cells with impaired remodeling of islet endocrine cells. It was thus suggested that amyloid deposition destroyed islet microenvironment and compromised reserved capacity of the islet, worsening diabetes with resultant poor prognosis.

研究分野：糖尿病学

キーワード：2型糖尿病 膵島 アミロイド 病理 インスリン抵抗性

1. 研究開始当初の背景

2 型糖尿病の特徴としてインスリン分泌低下とインスリン抵抗性状態がある。しかしながら、その背景にある膵島の病理学的変化については今世紀に入るまでアミロイドに沈着以外にはまとまった報告はなかった。今世紀に入り私共の研究成果を皮切りに、米国、韓国および日本から 細胞量の低下が病理学的特徴であることが確立され、2 型糖尿病の概念が大きく変貌を遂げた。この 細胞の減少がアポトーシスなどによる細胞死によるものなのか、あるいはまた 細胞から 細胞、細胞への分化転換によるものかは不明のままである。また、インスリン分泌低下とインスリン抵抗性が膵島病理学的変化といかに関連するかは不明である。2 型糖尿病の膵島病理変化がいかに形成されるのか、またその病理変化が臨床的プロファイルといかに関連するののかの問題は、2 型糖尿病の発症や病態の進展を阻止するうえで解決すべき重要な課題である。

2. 研究の目的

2 型糖尿病での膵 細胞減少はこれまで、高血糖環境やインスリン抵抗性に対する代償機構の破綻による 細胞死によるものとみなされてきた。しかしながら、近年の研究から 細胞死よりも、むしろ から 、 細胞などへの分化転換(transdifferentiation) (筆者は化生 metaplasia の用語を好んで用いている)が 細胞量の減少の主因とする考えが台頭してきている。分化転換が事実であるならば変換した細胞を再び 細胞へと戻すことができれば糖尿病の回復も可能となる。一方、ヒト 2 型糖尿病の膵島変化として古くからアミロイド沈着がいわれているが、その意義はなお不明である。本研究では、2 型糖尿病での膵島 細胞の分化転換の有無、アミロイド沈着が膵島細胞に与える影響を検討する。また現在臨床応用されている糖尿病治療が分化転換にいかなる影響をもたらすかを、ヒト 2 型糖尿病、2 型糖尿病動物モデルの GK ラットを用いて検討する。

3. 研究の方法

形態学的に 細胞から あるいは などの分化転換の状況を、膵の切片の一局面から捉えることは不可能である。従って、現状では、膵島の免疫多重染色を用いて、インスリンとグルカゴンあるいはインスリンとソマトスタチンの2つのホルモンが陽性のなる2重ホルモン陽性細胞(bihormonal cell; Dual cell)の存在が分化転換のレベルを示すことになる。また、膵島内に4種のホルモン多重染色を実施し、いずれのホルモンにも陽性とならないかつ内分泌系細胞であるクロモグラニン陽性ホルモン陰性細胞(chromogranin-positive hormone-negative cell; CPHNC) (脱分化内分泌細胞 dedifferentiated cell)の存在も膵島リモデリングの状態を示している。本研究では dual cells、CPHNC の出現頻度、Ki67 陽性細胞、Apop-tag 陽性細胞の出現率をヒト 2 型糖尿病および GK ラットで調べた

4. 研究成果

1) ヒト 2 型糖尿病膵での分化転換の可能性とアミロイド沈着の影響

日本人 2 型糖尿病の剖検例膵標本 35 例についてアミロイド蓄積の状況を解析し、内分泌細胞変化に対する影響を検討した。アミロイド沈着を thioflavin 染色で同定し、膵島アミロイド占有容積を求めた。膵島内分泌細胞の検討には膵島ホルモン各種に対する特異抗体を用いて免疫 4 重染色を施し、 、 、 PP 細胞容積について検討した。これらの所見をアミロイド沈着のみられない 2 型糖尿病 25 例と比較対照した。その結果、アミロイド沈着のない糖尿病者では、 細胞減少の割合は少なく、非糖尿病者に比し 15-20% の減少にとどまり、 細胞は 15% 程度増加を示した。一方、アミロイド沈着のある糖尿病者では 細胞も 細胞も減少し、 細胞減少率は 40~50% と増大した。一方、アミロイド沈着のみられない 2 型糖尿病膵島では 細胞増加とともに、インスリン・グルカゴン、

あるいはインスリン・ソマトスタチン両陽性の二重陽性細胞が 1-2%出現し、クロモグラニン陽性ホルモン陰性の未分化内分泌細胞(chromogranin-positive hormone-negative cell; CPHN cell)の割合も 4-5%と増加していた。アミロイド沈着を示す糖尿病膵島では二重陽性細胞は 0-0.5%とわずかにみられ、CPHN cell も 1-2%程度とわずかな出現にとどまった。アポトーシス細胞は 0-0.2%、Ki67 陽性細胞は 1-2%と少なく、アミロイド沈着の有無で差はなかった。

これらの所見から、アミロイド沈着は 2 型糖尿病で 細胞の脱落の増加、細胞の減少とともに、予備能を有する未分化内分泌細胞のプールを減少させ、耐糖能異常、インスリン抵抗性など膵島微小環境を破壊し、膵島予備能を減少させ、2型糖尿病の病態を悪化させている可能性を示した。

2) GK ラットでの膵島変化、分化転換細胞の出現、DPP-IV 阻害薬による影響

40 週齢の GK ラット、対照は正常ウイスターラットを用い膵島での二重陽性細胞の有無を検討した。GK ラットではインスリン・グルカゴン二重陽性細胞は 0.2-0.4%、インスリン・ソマトスタチン陽性二重細胞は 0.5-1.4%の出現率であった。細胞減少は GK ラットで 30-40%の減少、細胞野 15-20%の相対的増加を認めた。DPP-IV 阻害薬を 26 週投与した GK ラット群では 細胞減少率が有意に抑制されており、上記二重陽性細胞はそれぞれ 1.5-2.5%、2.0-2.5%程度の出現を示していた。すなわちインクレチン関連薬の投与により、膵島内で分化転換細胞の割合の上昇がみられ、膵島内分泌細胞の可塑性の増大を認めた。

3) 結果のまとめ

現在、糖尿病の重症化の阻止、病態の改善を目指す有効な治療法の開発が必要とされている。今回の研究により、日本人 2 型糖尿病の膵島でのアミロイド沈着が膵島リモデリングによる病態修復機構を干渉し、糖尿病病態を悪化、進展させている可能性が示された。脂質異常やインスリン抵抗性はアミロイド沈着と密接に関連しており、その抑制は糖尿病進展の抑制へとつながる。今回の研究成果は、2 型糖尿病の新しい治療方向として、糖・脂質代謝と関連するインスリン抵抗性の改善、アミロイド沈着抑制による膵島微小環境の保護など有益である可能性を示すものである。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 11 件)

1: Takita M, Jimbo E, Fukui T, Aida K, Shimada A, Oikawa Y, Yagihashi S, Miura J, Babazono T, Kobayashi T. Unique inflammatory changes in exocrine and endocrine pancreas in enterovirus-induced fulminant type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2019 May 21. pii: jc.2018-02672. doi: 10.1210/jc.2018-02672. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31112279.

2: Sugimoto K, Murakami H, Deguchi T, Arimura A, Daimon M, Suzuki S, Shimbo T, Yagihashi S. Cutaneous microangiopathy in patients with type 2 diabetes: Impaired vascular endothelial growth factor expression and its correlation with neuropathy, retinopathy and nephropathy. *J Diabetes Investig.* 2019 Feb 4. doi:10.1111/jdi.13020. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30719863.

3: Yorek M, Malik RA, Calcutt NA, Vinik A, Yagihashi S. Diabetic Neuropathy: New Insights to Early Diagnosis and Treatments. *J Diabetes Res.* 2018 Dec 10;2018:5378439. doi: 10.1155/2018/5378439. eCollection 2018. PubMed PMID: 30648115; PubMed Central PMCID: PMC6311826.

4: Aida K, Fukui T, Jimbo E, Yagihashi S, Shimada A, Oikawa Y, Mori Y, Fujii T, Nishida Y, Koyama R, Kobayashi T. Distinct inflammatory changes of the pancreas of slowly progressive insulin-dependent (Type 1) diabetes. *Pancreas.* 2018 Oct;47(9):1101-1109. doi: 10.1097/MPA.0000000000001144. PubMed PMID: 30192315; PubMed Central PMCID: PMC6143218.

5: Aida K, Kobayashi T, Takeshita A, Jimbo E, Nishida Y, Yagihashi S, Hosoi M, Fukui T, Sugawara

A, Takasawa S. Crucial role of Reg I from acinar-like cell cluster touching with islets (ATLANTIS) on mitogenesis of beta cells in EMC virus-induced diabetic mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Sep 5;503(2):963-969. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.103. Epub 2018 Jun 28. PubMed PMID: 29935186.

6: Saito T, Mizukami H, Umetsu S, Uchida C, Inaba W, Abe M, Takahashi K, Kudo K, Itabashi C, Yagihashi S, Hakamada K. Worsened outcome in patients with pancreatic ductal carcinoma on long-term diabetes: association with E-cadherin1 (CDH1) promoter methylation. *Sci Rep*. 2017 Dec 22;7(1):18056. doi: 10.1038/s41598-017-18438-z. PubMed PMID: 29273724; PubMed Central PMCID: PMC5741711.

7: Niimi N, Yako H, Takaku S, Kato H, Matsumoto T, Nishito Y, Watabe K, Ogasawara S, Mizukami H, Yagihashi S, Chung SK, Sango K. A spontaneously immortalized Schwann cell line from aldose reductase-deficient mice as a useful tool for studying polyol pathway and aldehyde metabolism. *J Neurochem*. 2018 Mar;144(6):710-722. doi: 10.1111/jnc.14277. Epub 2018 Jan 16. PubMed PMID: 29238976.

8: Xin A, Mizukami H, Inaba W, Yoshida T, Takeuchi YK, Yagihashi S. Pancreas atrophy and islet amyloid deposition in patients with elderly-onset type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Sep 1;102(9):3162-3171. doi: 10.1210/jc.2016-3735. PubMed PMID: 28505316.

9: Yagihashi S. Diabetes and pancreas size, does it matter? *J Diabetes Investig*. 2017 Jul;8(4):413-415. doi: 10.1111/jdi.12590. Epub 2016 Dec 28. PubMed PMID: 27808474; PubMed Central PMCID: PMC5497047.

10: Yagihashi S, Inaba W, Mizukami H. Dynamic pathology of islet endocrine cells in type 2 diabetes: -Cell growth, death, regeneration and their clinical implications. *J Diabetes Investig*. 2016 Mar;7(2):155-65. doi: 10.1111/jdi.12424. Epub 2015 Oct 15. Review. PubMed PMID: 27042265; PubMed Central PMCID: PMC4773678.

11: Kobayashi T, Aida K, Fukui T, Jimbo E, Shimada A, Mori Y, Fujii T, Yagihashi S. Pancreatic ductal hyperplasia/dysplasia with obstructive chronic pancreatitis: an association with reduced pancreatic weight in type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2016 Apr;59(4):865-7. doi: 10.1007/s00125-016-3867-x. Epub 2016 Jan 28. PubMed PMID: 26820736; PubMed Central PMCID: PMC4779123.

[学会発表] (計 14 件)

計(14)件 / うち招待講演 計(1)件 / うち国際学会 計(1)件

1. Takahashi K, Hiroki Mizukami, Tetsuyuki Tateda, Soroku Yagihashi. Islet alterations in patients with type 2 diabetes complicated with macroangiopathic diseases. American Diabetes Association 76th meeting (国際学会) 2016年06月08日 ~ 2016年06月12日, New Orleans, USA. I
2. 八木橋操六, 糖尿病性神経障害Update (教育講演), 第27回日本末梢神経学会 (招待講演), 2016年08月26日 ~ 2016年08月27日. 大阪国際会議場
3. 稲葉渉, 水上浩哉, 小笠原早織, 八木橋操六. 中高年齢期の自然発症2型糖尿病GKラットの膵島変化に対するDPP-IV阻害薬効果. 第59回日本糖尿病学会, 2016年05月16日 ~ 2016年05月19日, 京都国際会議場,
4. 高橋和久, 水上浩哉, 八木橋操六. 大血管障害を有する2型糖尿病患者膵島の病理学的検討. 第59回日本糖尿病学会, 2016年05月16日 ~ 2016年05月19日, 京都国際会議場,
5. 神保絵梨佳, 小林哲郎, 福井智朗, 八木橋操六. 緩徐進行1型糖尿病(SPIDDM)の病理学的検討. 第59回日本糖尿病学会, 2016年05月16日 ~ 2016年05月19日, 京都国際会議場,
6. 水上浩哉, 高橋和久, 遅野井祥, 工藤和洋, 板橋智映子, 八木橋操六. 新しい12型糖尿病亜分類の膵島病理学的所見に基づく検証. 第62回日本糖尿病学会, 2019年5月23-25日, 仙台市国際会議場,

7. 一戸寛, 遅野井祥, 大徳菜々子, 高橋和久, 稲葉渡, 工藤和洋, 水上浩哉, 八木橋操六. 膵島細胞は異なる機序で成熟する. 第62回日本糖尿病学会、2019年5月23-25日, 仙台市国際会議場
8. 滝田美夏子, 神保江莉加, 福井智康, 会田薫, 及川洋一, 島田朗, 八木橋操六, 小林哲郎. 劇症1型糖尿病における膵病理の特徴, 第62回日本糖尿病学会、2019年5月23-25日, 仙台市国際会議場
9. 神保江莉加, 滝田美夏子, 福井智康, 会田薫, 島田朗, 及川洋一, 八木橋操六, 小林哲郎. 緩徐進行1型糖尿病 (SPIDDM) における膵内外分泌腺異常, 第62回日本糖尿病学会、2019年5月23-25日, 仙台市国際会議場
10. 新井仁, 遅野井祥, 高橋和久, 工藤和洋, 板橋智映子, 八木橋操六, 水上浩哉. 膵島アミロイド沈着と低酸素関連分子の発現について. 第62回日本糖尿病学会、2019年5月23-25日, 仙台市国際会議場
11. 水上浩哉, 高橋和久, 遅野井祥, 郭丹陽, 工藤和洋, 板橋智映子, 八木橋操六. 急性心筋梗塞合併2型糖尿病は膵島病理学的所見により亜分類される. 第108回日本病理学会、2019年5月9日11日, 東京、国際フォーラム、
12. 郭丹陽, 高橋和久, 遅野井祥, 工藤和洋, 八木橋操六, 水上浩哉. SGLT2 阻害薬とDPP4 阻害薬併用は2型糖尿病膵島自律神経を改善する. 第108回日本病理学会、2019年5月9日11日, 東京、国際フォーラム、
13. 新井仁, 遅野井祥, 高橋和久, 工藤和洋, 板橋智映子, 八木橋操六, 水上浩哉. 2型糖尿病膵臓における低酸素関連分子の発現についての検討. 第108回日本病理学会、2019年5月9日11日, 東京、国際フォーラム
14. 一戸寛, 遅野井祥, 郭丹陽, 工藤和洋, 水上浩哉, 八木橋操六. 胎生期から学童期の膵島内分泌細胞は各細胞独自の容積、増殖能を示す. 第108回日本病理学会、2019年5月9日11日, 東京、国際フォーラム

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕とくになし

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名: 水上浩哉

ローマ字氏名: Hiroki Mizukami

研究協力者氏名: 額田 均

ローマ字氏名: Hitoshi Nukada

研究協力者氏名: 堀田亮太郎

ローマ字氏名: Ryotarou Hotta

研究協力者氏名: 小笠原早織

ローマ字氏名: Saori Ogasawara

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。