

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：84503

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2019

課題番号：16K15241

研究課題名(和文) 膵臓 細胞に作用する新たな増殖機構の解明

研究課題名(英文) Induction of new pancreatic b-cell growth in response to changes in metabolic changes

研究代表者

稲田 明理 (Inada, Akari)

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構・その他部局等・研究員(上席・主任研究員クラス)

研究者番号：50448429

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：膵島 細胞は肥満や妊娠、組織損傷など生体内の環境変化に応じて肥大・増加することが知られており、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。しかし、細胞の増殖誘導シグナルや他細胞とともに膵島全体の形態をどのように維持しているかは明らかではない。本研究課題では、高血糖の糖尿病マウスを用いて、生体内の環境の変化が膵島細胞内の遺伝子発現にどのような変化をもたらし、細胞の増殖と形態変化を誘導するのかを解明することを目的とした。膵島 細胞が最も顕著に変化する時期において、様々な条件下において、大きく変動する候補遺伝子を同定、これらの同定した遺伝子の発現が増殖誘導に関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞の増殖に関する新たな発見がもたらされた。
細胞量の増加とそれを維持する分子機構が明らかになれば、体内で十分量の 細胞を確保してインスリン不足を解消することができ、糖尿病の発症予防と発症後の根本的な治療となる。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic β -cells within islets explosively increase after birth into adulthood. β -cell mass and cell volume change dynamically in response to growth, pregnancy, obesity, aging, etc., in order to maintain glucose homeostasis. The aim of this research is to identify the molecular mechanisms underlying new β -cell generation to maintain an appropriate cell mass in response to changes in metabolism. Using our hyperglycemic diabetic mouse, in which pancreatic β -cells are depleted but dramatically increases in response to changes in life stage or metabolic changes, we analyzed gene expression profile and identified key mediators of β -cell proliferation in response to changes in metabolism.

研究分野：生物学

キーワード：膵臓 膵島 細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵島 β 細胞は肥満や妊娠、組織損傷など生体内の環境変化に応じて肥大・増加することが知られており、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。しかし、 β 細胞の増殖誘導シグナルや他細胞とともに膵島全体の形態をどのように維持しているかは明らかではない。

2. 研究の目的

本研究課題では、高血糖の糖尿病マウスを用いて、生体内の環境の変化（性ホルモン刺激）が膵島細胞内の遺伝子発現にどのような変化をもたらし、 β 細胞の増殖と形態変化を誘導するのかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

糖尿病モデルマウス（高血糖で膵島内の β 細胞は非常に少ない）を用いて、(1) β 細胞が顕著に増加し、膵島の形態がダイナミックに変化する、この変化を生化学的解析、膵臓組織の形態学・免疫組織学的に経時的に解析し、基礎データを蓄積する。(2) 最も変化が顕著な時期に膵島単離技術により膵島とそれ以外の細胞分画に分け、純度の高い膵島細胞を単離する。(3) 単離細胞より RNA を抽出し、マイクロアレイにより遺伝子発現を解析し、候補遺伝子を同定する。(4) 絞り込んだ候補遺伝子の経時的な発現の変化を検討する。

4. 研究成果

(1) 糖尿病モデルマウスの膵島の形態がダイナミックに変化する様子を生化学的解析、膵臓組織の形態学・免疫組織学的解析により、経時的にとらえた。もともと、糖尿病マウスの膵島内には β 細胞が非常に少なく α 細胞が中心部まで多く存在していたが、刺激後一週間で β 細胞が徐々に増加しはじめ、数週間後には顕著に増加して、 α 細胞が外側へ移動して膵島の形態がダイナミックに回復した。

(2) 先行結果より、膵島 β 細胞が最も顕著に変化する時期を選定した。刺激後、約 1 週間後あたりが、最も変化が顕著な時期のようであった。

(3) そこで刺激後、約 1 週間後の糖尿病マウスから膵島を単離し、RNA を抽出し、マイクロアレイにて遺伝子発現解析を行なった。様々な遺伝子に大きな動きが見られ解析が困難であったが、その中で刺激を与えたマウス群にのみ大きく変動する候補遺伝子を見つけ、誘導遺伝子として同定した。

(4) 次に同定した遺伝子の発現変動を、週齢など様々な条件下において検討した。すなわち、妊娠マウスでは出産直前 17.5 から 19.5 日目に、経年的に血糖値が低下するメスの糖尿病マウスでは 4 週齢頃から 20 週齢頃まで、若年および老年のオスメスマウスにおいて、候補遺伝子の発現変動がみられるかどうかを、当該マウスから膵島を単離し、RNA を抽出し、遺伝子発現解析を行なった。さらに、糖尿病マウスに膵島を移植して(膵島移植)、移植した細胞の環境を変えることにより同定された遺伝子の発現が誘導されるかを、移植片から mRNA を採取し解析した。その結果、同定した遺伝子の発現が上記の様々な条件下で変動していることを確認、増殖誘導に関与しているこ

とが明らかになった。

現在、遺伝子欠損マウス(全身および脾臓 細胞特異的)を2種類作製しており、今後、これらのマウスを詳細に解析することにより、遺伝子の機能を明らかにする予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

| | |
|---|----------------------------|
| 1. 著者名 Inada A, Fujii NL, Inada O, Higaki Y, Furuichi Y, Nabeshima YI | 4. 巻 157 |
| 2. 論文標題 Effects of 17 β -estradiol and androgen on glucose metabolism in skeletal muscle | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Endocrinology | 6. 最初と最後の頁 4691-4705 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/en.2016-1261 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Inada A, Inada O, Fujii NL, Nagafuchi S, Katsuta H, Yasunami Y, Matsubara T, Arai H, Fukatsu A and Nabeshima YI | 4. 巻 27 |
| 2. 論文標題 Adjusting the 17 β -estradiol-to-Androgen ratio ameliorates diabetic nephropathy | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 J Am Soc Nephrol | 6. 最初と最後の頁 3035-3050 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1681/ASN.2016121275 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Maruyama1 N, Asai T, Abe C, Inada A, Miyashita K, Maeda M, Matsuo M, Nabeshima YI | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Establishment of a highly sensitive sandwich ELISA for the N-terminal fragment of titin in urine | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 393375-39386 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/srep39375. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Inada O, Yokogawa Y, Tsuda K, Seino Y, Katsuta H, *Inada A | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Comparison of the Nature and Cost of Diabetes Treatment at Two Clinics in Japan and the United States | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Immunoendocrinology | 6. 最初と最後の頁 1-8 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） http://dx.doi.org/10.14800/ie.1444 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 9件 / うち国際学会 2件）

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 骨格筋の糖取り込みにおける性ステロイドホルモンの役割 |
| 3. 学会等名 分子骨格筋代謝研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 膵 細胞の新生・増殖誘導とその制御因子 |
| 3. 学会等名 「内分泌・代謝学共同利用・共同研究拠点セミナー生活習慣病解析プロジェクト共催」 群馬大学生体調節研究所（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 老化モデルにおけるインクレチン産生と糖代謝制御「臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み」 |
| 3. 学会等名 「臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み」 H30年度生理学研究所研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 膵 細胞の分化・増殖と血糖値調節への応用 |
| 3. 学会等名 第47回日本栄養・食糧学会、日本農芸化学会北海道支部合同シンポジウム（招待講演） |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 糖尿病性腎症における性ステロイドホルモンの病態生理学的意義 |
| 3. 学会等名 第30回川島腎カンファレンス (招待講演) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 骨格筋の糖取り込みにおける性ステロイドホルモンの病態生理学的役割 |
| 3. 学会等名 H29年度生理学研究所研究会「臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み」(招待講演) |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Akari Inada |
| 2. 発表標題 -cell induction in vivo in severely diabetic male mice by changing the circulating levels and pattern of the ratios of estradiol to androgens. |
| 3. 学会等名 International Congress on Obesity & Metabolic Syndrome in conjunction with 45th Annual Scientific Meeting of KSSO Venue (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 糖尿病マウスモデルの作製とその成果 |
| 3. 学会等名 第2回日本医療総合展メディカル ジャパン (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 稲田明理 |
| 2. 発表標題 糖尿病状態における性ステロイドホルモンの病態生理学的役割 |
| 3. 学会等名 「臓器相関による生体制御システムとその変容の仕組み」 H28年度生理学研究所研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

| | | |
|-----------------------------------|-----------------|---------------|
| 産業財産権の名称 インクレチン産生促進剤及び糖取り込み促進剤 | 発明者 稲田 鍋島 藤井 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、2019-222759 | 出願年 2019年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

| |
|---|
| 「日本の女性科学者たち2018～その歩みと大切にしたいもの～」 SJWSロールモデル集 日本女性科学者の会 冊子 |
|---|

6. 研究組織

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|---------------------------|-----------------------|----|