

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19542

研究課題名(和文) インスリン受容体およびIGF-1受容体阻害後の膵細胞、肝臓、脂肪組織の回復機構

研究課題名(英文) The mechanism of recovery after inhibition of insulin receptor and IGF-1 receptor in pancreatic beta cells, liver, adipose tissue.

研究代表者

富樫 優 (TOGASHI, Yu)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：10710444

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：インスリン受容体・IGF-1受容体遮断薬OSI-906投与モデルを用い、インスリン抵抗性下および解除後の膵細胞、肝臓、脂肪組織の可塑的変化の分子機構を解析した。OSI-906投与により、インスリン/IGF-1に非依存的な膵細胞増殖、内臓脂肪の著明な萎縮、脂肪肝を認め、OSI-906投与中止後に対照群と同等となった。本モデルでは、脂肪萎縮糖尿病の治療薬として用いられるレプチンや経口糖尿病薬のDPP-4阻害薬の投与は、脂肪肝を改善し、経口糖尿病薬SGLT-2阻害薬の投与は耐糖能の改善および膵細胞量の増大効果を認め、インスリン/IGF-1に非依存的な臓器特異的作用を有する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Molecular mechanisms of plastic changes of pancreatic cells, liver, adipose tissue under and after insulin resistance were analyzed using insulin receptor IGF-1 receptor blocker, OSI-906 administration model. OSI-906 administration showed pancreatic β -cell proliferation independent of insulin/IGF-1, significant atrophy of visceral fat, and fatty liver. These differences were not shown after withdrawal of OSI-906. In this model, administration of leptin, a drug for lipotrophic diabetes, and DPP-4 inhibitor, an oral diabetes agent, improved fatty liver, and administration of SGLT-2 inhibitor, an oral diabetes agent, improved glucose tolerance. These results suggested that these agents have organ-specific effect independent of insulin/IGF-1.

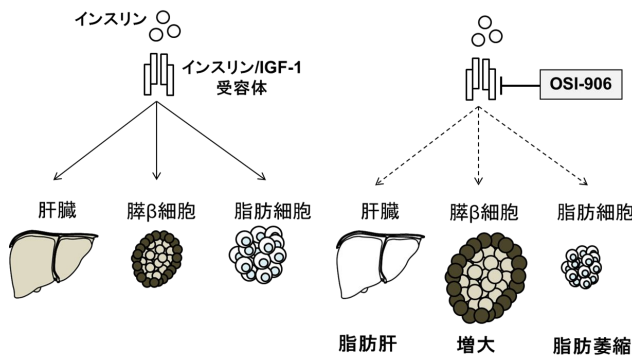
研究分野：糖尿病

キーワード：インスリン抵抗性 膵細胞 脂肪 脂肪肝

1. 研究開始当初の背景

インスリン受容体 (IR) および IGF-1 受容体 (IGF1R) を介したシグナル伝達は、下流のインスリンシグナル分子である PI3K、IRS-1/2、Akt 等を介して、ほぼすべての臓器の代謝調節・成長・生存に関与している。また、IR および IGF-1R シグナルは、悪性腫瘍の発生および進展とも密接に関与しており、IR および IGF1R のチロシンリン酸化を特異的に阻害し、IR および IGF-1R シグナルを遮断する OSI-906 (Linsitinib) が経口抗腫瘍薬として開発され、固形癌患者に対しヒトでの臨床試験が実施されている。

我々は、この OSI-906 をマウスに経口投与することで、急速に全身のインスリン抵抗性を惹起するモデルを報告した (Endocrinology 2014)。OSI-906 の7日間投与後、組織を解析したところ膵細胞量は増大し、さらに内臓脂肪の著明な萎縮および脂肪肝を認めた (図1)。



また、7日間 OSI-906 投与後に薬剤を中止すると、インスリン抵抗性は急激に改善し、投薬中止後7日目には、一過性に増加した膵

図1: OSI-906 投与における全身インスリン抵抗性惹起モデル

OSI-906 は、インスリン受容体および IGF-1 受容体の特異的に阻害し、全身のインスリン抵抗性を惹起し、7日間で膵β細胞の増殖、脂肪組織萎縮、肝の脂肪変性をきたす。

細胞量は再び減少し元の膵細胞量に戻り、脂肪肝および脂肪組織の萎縮もコントロール投与群マウスと同等まで回復することを見出した (図2)。

すなわち、このモデルでは、7日間でインスリン抵抗性による膵細胞、肝臓、脂肪組織の変化を認め、その7日後にインスリン抵抗性改善により各組織がそれぞれ正常状態に急速に回復する。申請者はこれが代謝に伴う各組織の可逆的变化を短期間で解析するのに非常に優れたモデルになり得ることに着目した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、この OSI-906 を用いた一過性の IR および IGF1R 阻害モデルを用いて、インスリン抵抗性解除後の膵細胞、肝臓、および脂肪組織の可塑的回復の分子機構を明らかにすることである。これらの解明より、糖尿病状態における膵細胞の増殖促進のみならず、脂肪細胞の再生促進や脂肪肝改善といった病態における組織の正常化へ向けた分子基盤を構築する。

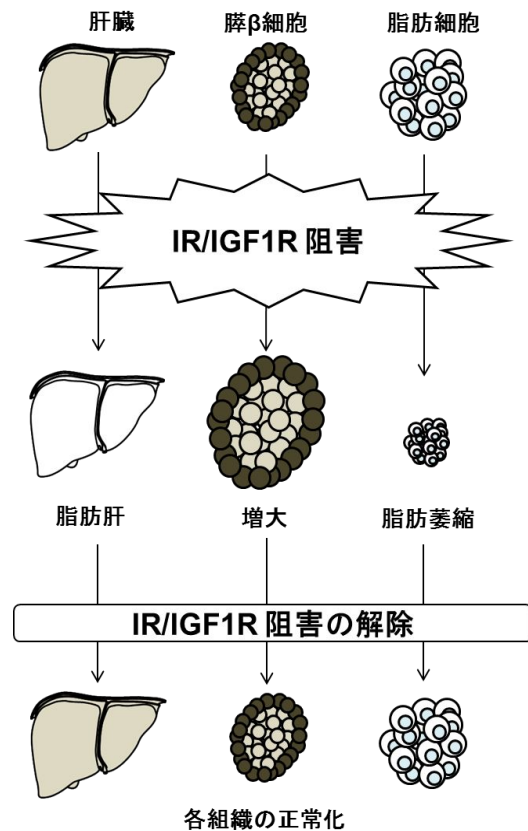


図2: OSI-906 による一過性インスリン抵抗性解除後の膵β細胞、脂肪組織、肝臓における可塑的变化

OSI-906 投与中止後7日間で、膵β細胞、肝臓、脂肪組織の各組織は可逆的变化を示し正常化する。

3. 研究の方法

インスリン受容体・IGF-1 受容体遮断薬である OSI-906 を7日間投与後、膵細胞、肝臓、脂肪組織の解析を行った。

インスリン受容体基質である IRS-2 の欠損マウスに OSI-906 を7日間投与後、膵細胞の解析を行った。

OSI-906 を投与したマウスに脂肪萎縮糖尿病の治療薬として用いられているレプチンや経口糖尿病薬の DPP-4 阻害薬および SGLT-2 阻害薬を投与し、OSI-906 による各組織変化への影響を解析した。

4. 研究成果

OSI-906 投与により、膵 細胞では、インスリン抵抗性下における代償性増殖に重要とされている CyclinD2 発現に変化はみられず、CyclinA2、CyclinB1、CyclinB2、CyclinE2、Foxm1 の発現が上昇した。また、肝臓より分泌され、膵 細胞増殖作用が報告されている SerpinB1 の肝臓における発現上昇を認めた。脂肪組織では、脂肪分解に参与する Atgl、Lpl 発現の亢進、レプチン発現の低下を認め、肝臓では、脂肪酸トランスポーターである CD36 発現の亢進を認めた。上記の各臓器における遺伝子発現変化は、いずれも OSI-906 投与中止後に対照群と同等となった。以上より、OSI-906 投与モデルにおける膵 細胞の増殖機構は、インスリン/IGF-1 に非依存的な経路を介すること、また脂肪組織では OSI-906 投与により脂肪分解が亢進し、肝臓では脂肪酸取り込みが亢進していることが示唆された。

インスリン受容体基質である IRS-2 の欠損マウスは高脂肪食誘導性の代償性膵 細胞増殖が障害されることが知られている。そこで、IRS-2 欠損マウスに OSI-906 を投与し、OSI-906 誘導性の膵 細胞増殖における IRS-2 の役割を検証した。IRS-2 欠損マウスおよび野生型マウスに OSI-906 または Vehicle を 7 日間投与したところ、4 群間に有意な体重の変化は認めなかった。野生型では OSI-906 投与により高インスリン血症をきたすものの、有意な血糖上昇は認めなかった。一方、IRS-2 欠損マウスでは OSI-906 投与により高インスリン血症および高血糖を認めた。また、IRS-2 欠損マウスにおいても OSI-906 投与によって野生型マウスと同等に、膵 細胞量および膵 細胞増殖は有意に増加した。このことから、OSI-906 による膵 細胞増殖は、IRS-2 非依存性の経路を介していることが示唆された。

次に、この OSI-906 投与モデルマウスに、脂肪萎縮糖尿病の治療薬として用いられているレプチンや経口糖尿病薬の DPP-4 阻害薬および SGLT-2 阻害薬を投与した際の代謝・組織変化を解析した。

レプチンおよび DPP-4 阻害薬は、OSI-906 投与マウスにおいて、体重、高インスリン血症、耐糖能、膵 細胞増殖および脂肪萎縮に変化をきたさなかったが、肝重量および肝内中性脂肪含量を有意に低下させ、肝脂肪化を改善した。一方、SGLT-2 阻害薬は OSI-906 投与マウスにおいて、体重、高インスリン血症、肝脂肪化、および脂肪萎縮に変化を与えず、耐糖能を改善させ、膵 細胞の量および増殖能を亢進させた。SGLT-2 阻害薬を投与した OSI-906 投与マウスの膵島では、FoxM1、PLK-1、CENP-A の発現は有意に上昇し、IRS-2 等のインスリンシグナルを構成する分子群の発現に有意な変化は認められなかった。

以上よりいずれの薬剤もインスリン/IGF1 に非依存的な臓器特異的作用を有する可能

性が示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Tajima K, Shirakawa J, Togashi Y, Yamazaki S, Okuyama T, Kyohara M, Konishi H, Terauchi Y. Metabolic recovery of lipodystrophy, liver steatosis, and pancreatic cell proliferation after the withdrawal of OSI-906. *Sci Rep.* 7(1):4119, 2017 (査読あり)

Inoue H, Shirakawa J, Togashi Y, Tajima K, Okuyama T, Kyohara M, Tanaka Y, Orime K, Saisho Y, Yamada T, Shibue K, Kulkarni RN, Terauchi Y. Signaling between pancreatic β -cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A8 exacerbates β -cell apoptosis and islet inflammation. *J Biol Chem.* in press. (査読あり)

Kyohara M, Shirakawa J, Okuyama T, Kimura A, Togashi Y, Tajima K, Hirano H, Terauchi Y. Serum Quantitative Proteomic Analysis Reveals Soluble EGFR To Be a Marker of Insulin Resistance in Male Mice and Humans. *Endocrinology.* 158(12): 4152-4164, 2017(査読あり)

Tajima K, Shirakawa J, Okuyama T, Kyohara M, Yamazaki S, Togashi Y, and Terauchi Y. Effects of metformin on compensatory pancreatic β -cell hyperplasia in mice fed a high-fat diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 313(3):E367-E380, 2017. (査読あり)

Okuyama T, Shirakawa J, Yanagisawa H, Kyohara M, Yamazaki S, Tajima K, Togashi Y, Yasuo Terauchi Y. Identification of the matricellular protein Fibulin-5 as a target molecule of glucokinase-mediated calcineurin/NFAT signaling in pancreatic islets. *Sci Rep.* 7(1):2364, 2017. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

後藤 希実、白川 純、奥山 朋子、田島 一樹、寺内 康夫. インスリンおよび IGF-1 両受容体阻害薬 OSI-906 による膵 細胞増殖における IRS-2 の役割. 日本糖尿病・肥満動物学会. 2017 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富樫 優 (TOGASHI Yu)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：10710444 研究者番号：

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

寺内 康夫 (TERAUCHI, Yasuo)

白川 純 (SHIRAKAWA, Jun)

田島 一樹 (TAJIMA, Kazuki)

折目 和基 (ORIME, Kazuki)

奥山 朋子 (OKUYAMA Tomoko)