

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08475

研究課題名(和文) 非侵襲的膵 細胞イメージング法を用いた糖尿病発症過程の解明

研究課題名(英文) Elucidation of a pathogenic process of diabetes using a noninvasive pancreatic beta cell imaging method

研究代表者

藤本 裕之 (Fujimoto, Hiroyuki)

京都大学・環境安全保健機構・助教

研究者番号：50437274

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、放射性同位元素標識exendinプローブを用いて非侵襲的に膵 細胞量を評価する手法の開発を行った。プローブの膵 細胞への集積と、既存の免疫染色による病理学的な膵 細胞量評価の間に相関がありプローブの集積と膵 細胞量との間の定量性を示した。次に本手法を用いた1型糖尿病モデルマウスにおける糖尿病発症前後での膵 細胞量の評価を行い、糖尿病発症群で非発症群と比較して膵 細胞量が減少していることを非侵襲的に評価することができた。また、糖尿病発症過程を評価するために中程度の脂肪食で糖尿病を緩やかに発症するマウスを用いた検討を経時的な血糖値や耐糖能の変化やSPECT撮像及び画像解析により行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非侵襲的にかつ経時的な膵 細胞量の変化を捉えることができれば、糖尿病の病態解明の一助となるだけでなく、より早期に介入することで、糖尿病そのものの発症を抑制するための治療を行うことが可能になると考えられる。そのため、本手法は今後の糖尿病診断や治療方針への寄与、また、糖尿病治療薬の開発にも有用であると考えることより本研究の学術的かつ社会的意義は大きい。

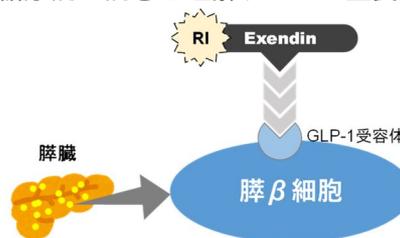
研究成果の概要(英文)：In this study, I performed to develop a method for evaluating a beta cell mass (BCM) invasively by using an exendin probe labeled radioisotope. There was correlation between the radiation derived from probe accumulation in pancreas and the pancreatic BCM using a pre-existing pathological method, indicating quantifiability between probe accumulation and pancreatic BCM. The BCMs before and after the onset of diabetes in type 1 diabetes model mouse were evaluated by this imaging technique, the BCM was reduced in the diabetes-onset group compared to the non-diabetes-onset group. In order to evaluate the process of diabetes development in terms of BCM, BCM with SPECT imaging and various factors were examined in mice that develop diabetes moderately on a moderate fat diet.

研究分野：糖尿病

キーワード：膵 細胞イメージング 膵 細胞量 SPECT 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

近年、糖尿病患者及びその予備軍の数は増加の一途をたどっている。1型糖尿病は、膵細胞が選択的に障害され、膵島が枯渇する病態の糖尿病である。強化インスリン療法によっても良好なコントロールが困難であり、合併症の進行により医療経済上も大きな問題となっている。また、2型糖尿病においても、現在、日本における患者数は推定1000万人を超え、近年その増加は世界的にも深刻な状況にある。この2型糖尿病において、耐糖能異常出現段階で既に膵島量が減少していること、そして膵島量の減少により治療抵抗性となる可能性が指摘されている (Diabetes Care. Vol29, 2006, Diabetes. Vol44, 1995)。また、最近では、膵細胞を増加させる、もしくは、減少を抑制する薬の開発が進んだことや1型糖尿病の治療法として膵臓・膵島移植が期待されることにより生体内の膵細胞量を非侵襲的に知るための技術が求められている。膵島(膵細胞)は、現在その機能面で評価され、血中インスリンやCペプチドがその指標となっている。その機能は、膵臓内の膵島(膵細胞)量と個々の膵島のインスリン分泌能の掛け算によるものであるため、膵島(膵細胞)量を知ることは糖尿病の病態を理解する上で重要であると考えられる。しかしながら、これまで膵島量を非侵襲的に評価する系は確立されておらず、量的評価は剖検のみで行われている。非侵襲的にかつ経時的な膵細胞量の変化を捉えることができれば、糖尿病の病態解明の一助となるだけでなく、より早期に介入することで、糖尿病そのものの発症を抑制することが可能になると考えられる



2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、膵細胞量と糖尿病の病態の関係とくに発症過程での膵細胞量の変化を理解することである。そのためにまず、膵細胞の定量方法の確立を行い、糖尿病モデルマウスを用いた検討を行うことが目的である。

3. 研究の方法

・プローブの膵細胞への集積と膵細胞量の相関についての検討

(1) 膵細胞定量評価の可能性についての検討

MIP-GFPマウス(マウスインスリンプロモーター下にGFPを導入したマウス:膵細胞特異的にGFPを発現する)に放射性同位元素標識したexendinプローブを投与後、摘出した膵臓を切片化しAutoradiographyを行う。膵切片における蛍光強度(膵細胞由来)と集積放射能(プローブの膵細胞への集積由来)の関係(相関)を評価した。

(2) 定量性評価(プローブの膵臓への集積と膵細胞量との関係評価)

糖尿病の進行度合いの異なるNODマウス(1型糖尿病モデルマウス)にプローブを投与し、膵臓を摘出・切片化を行った。切片をインスリン染色することで既存の面積からの膵細胞量の算出方法と本手法での算出膵細胞量の比較を行った。

・糖尿病モデルマウスでの膵細胞量の縦断的な評価・検討

NODマウスの糖尿病発症前後における膵細胞量を本プローブによるSPECT-CT撮像から得られた画像を解析し評価した。NODマウスは、シクロフォスファミド(CPA)を投与することで糖尿病状態に誘導し実験に用いた。CPA投与後2週間で糖尿病発症した個体としなかった個体があり、それぞれについてSPECT撮像及び画像解析から膵細胞量の評価を行った。また、それらのマウスを用いた既存の膵臓の切片の免疫染色から算出される膵細胞量とSPECT画像からのプローブの集積放射能の相関から回帰式を得た。この回帰式からCPA投与前後でのSPECT-CT画像から得られたプローブ集積を膵細胞量に換算した。

・糖尿病モデルマウスを用いた経時的な病態変化における膵細胞量と耐糖能の関係についての縦断的検討

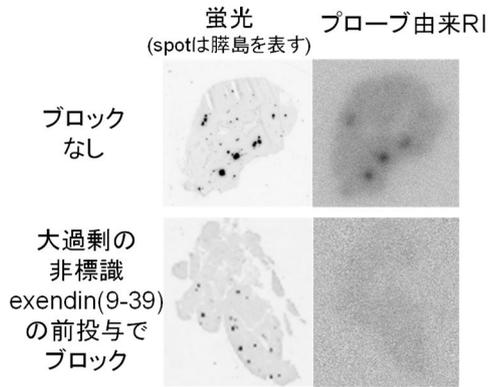
(1) 糖尿病モデル動物(NONcNZOマウス)を用いた糖尿病発症過程における血糖値、耐糖能および経時的な膵島量評価

中程度の脂肪食負荷で食餌性肥満を呈する糖尿病モデルNONcNZO10マウスを用いた。まず、11%脂肪食とコントロール食(5%脂肪)を用いて4-16週齢の観察を行い、随時血糖値測定および体重の評価をした。

4. 研究成果

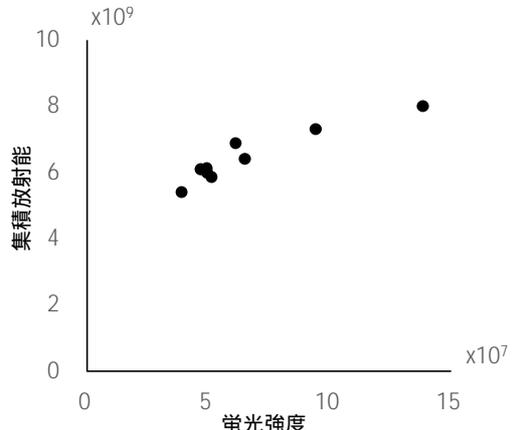
・プローブの膵細胞への集積と膵細胞量の相関についての検討

(1) 膵 細胞定量評価の可能性についての検討



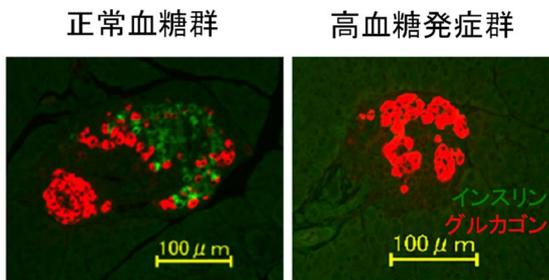
¹¹¹In-Ex4静注後のMIP-GFPマウス凍結膵切片のオートラジオグラフィー

Fujita N, et al. FASEB J. 2019;33:11836-11844.



ARGでの蛍光強度のプローブ由来の集積放射能の相関

Fujita N, et al. FASEB J. 2019;33:11836-11844.



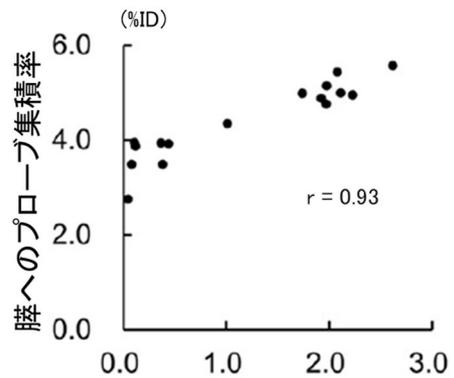
NODマウス膵島の免疫染色画像

Fujita N, et al. FASEB J. 2019;33:11836-11844.

プローブを投与した摘出した膵臓を切片化し Autoradiography を行い、その切片における蛍光強度 (膵 細胞由来) と集積放射能 (プローブの膵 細胞への集積由来) の関係 (相関) を評価した結果、蛍光強度と放射線集積の間に強い相関を示すことが分かった。

(2) 定量性評価(プローブの膵臓への集積と膵 細胞量との関係評価)

既存のインスリンの免疫染色を利用した病理学的な膵 細胞量と本 exendin プローブを用いた膵臓での集積放射能の評価から算出した膵 細胞量 の間に良好な相関がみられたことから本手法を用いた膵 細胞量の評価が可能であることが分かった。



膵切片から算出したβ細胞量 (mg)

膵切片のインスリン陽性面積割合 × 膵重量により計算

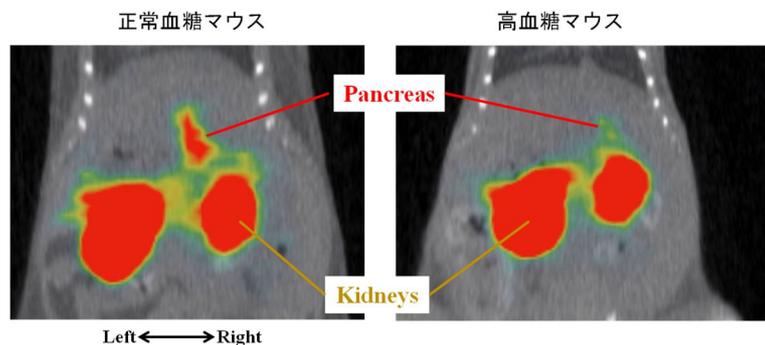
NODマウスにおける¹¹¹In-Ex4の膵集積率と膵β細胞量の相関

Fujita N, et al. FASEB J. 2019;33:11836-11844.

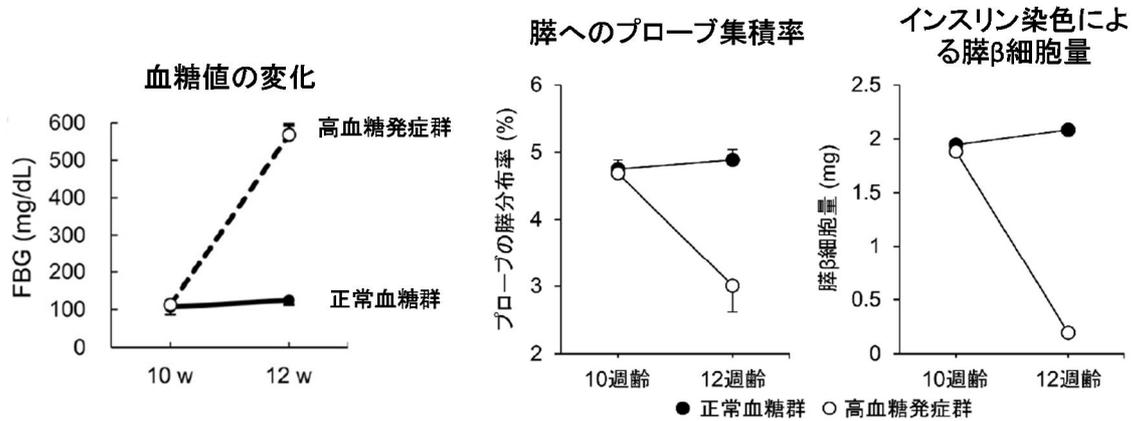
・糖尿病モデルマウスでの膵 細胞量の縦断的な評価・検討

糖尿病の発症前後における糖尿病の非発症個体においてはプローブの集積は投与前と大きな変化がなかったが、発症個体においてはプローブの集積が著明に少なかった。また、そのさい、得られた回帰式を用いて SPECT 画像から得られたプローブの集積放射能を膵 細胞に換算し、評価した結果、糖尿病発症により膵 細胞量は1.88 mgから0.19 mgへ減少していると推定された。

これらの結果より、本手法を用いることで、マウスの糖尿病発症前後における膵 細胞量の推移を非侵襲的かつ縦断的に推定することが可能となった。



¹¹¹In-Ex4 SPECT 投与NODマウスのSPECT画像



同一個体NODマウスでの、¹¹¹In-Ex4 SPECTによる縦断的評価

Fujita N, et al. FASEB J. 2019;33:11836-11844.

・糖尿病モデルマウスを用いた継時的な病態変化における膵細胞量と耐糖能の関係についての縦断的検討

まず、使用したマウスの糖尿病発症過程の病態変化を知るため、血糖値や耐糖能、体重の変化について評価した。随時血糖値は、11%脂肪食群で7週齢から上昇傾向を示し、11週齢には500 mg/dL程度まで上昇した。また、体重は11%脂肪食群においてコントロール食群と比較して負荷開始翌週から増加傾向を示し、7週齢程度から有意な差を認めた。また、耐糖能についても評価した。経口グルコース負荷試験を行った結果、コントロール食群と比較して11%脂肪食群において週齢の経過とともに耐糖能が悪化することが分かった。つぎに膵島量の変化について縦断的なSPECT撮像での画像解析により検討を行った。耐糖能の増悪にともなって膵島量についても差がついていることが分かった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fujita Naotaka, Fujimoto Hiroyuki, Hamamatsu Keita, Murakami Takaaki, Kimura Hiroyuki, Toyoda Kentaro, Saji Hideo, Inagaki Nobuya	4. 巻 33
2. 論文標題 Noninvasive longitudinal quantification of cell mass with [¹¹¹ In]-labeled exendin-4	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 11836 ~ 11844
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201900555R	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 -
1. 著者名 Murakami Takaaki, Fujimoto Hiroyuki, Fujita Naotaka, Hamamatsu Keita, Matsumoto Koji, Inagaki Nobuya	4. 巻 160
2. 論文標題 Noninvasive Evaluation of GPR119 Agonist Effects on β -Cell Mass in Diabetic Male Mice Using ¹¹¹ In-Exendin-4 SPECT/CT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 2959 ~ 2968
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2019-00556	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 -
1. 著者名 Hamamatsu Keita, Fujimoto Hiroyuki, Fujita Naotaka, Murakami Takaaki, Shiotani Masaharu, Toyoda Kentaro, Inagaki Nobuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Investigation of the preservation effect of canagliflozin on pancreatic beta cell mass using SPECT/CT imaging with ¹¹¹ In-labeled exendin-4	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18338
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-54722-w	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 -
1. 著者名 K. Hamamatsu, H. Fujimoto, N. Fujita, T. Murakami, H. Kimura, H. Saji, N. Inagaki	4. 巻 64-65
2. 論文標題 Establishment of a method for in-vivo SPECT/CT imaging analysis of ¹¹¹ In-labeled exendin-4 pancreatic uptake in mice without the need for nephrectomy or a secondary probe.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucl Med Biol.	6. 最初と最後の頁 22-27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nucmedbio.2018.06.002	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 -

1. 著者名 Fujimoto Hiroyuki, Fujita Naotaka, Hamamatsu Keita, et al	4. 巻 12
2. 論文標題 First-in-Human Evaluation of Positron Emission Tomography/Computed Tomography With [18F]FB(ePEG12)12-Exendin-4: A Phase 1 Clinical Study Targeting GLP-1 Receptor Expression Cells in Pancreas	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 717101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.717101	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 -

1. 著者名 Murakami Takaaki, Fujimoto Hiroyuki, Inagaki Nobuya	4. 巻 12
2. 論文標題 Non-invasive Beta-cell Imaging: Visualization, Quantification, and Beyond	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 714348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2021.714348	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 -

1. 著者名 Ogawa Yu, Kimura Hiroyuki, Fujimoto Hiroyuki, Kawashima Hidekazu, Toyoda Kentaro, Mukai Eri, Yagi Yusuke, Ono Masahiro, Inagaki Nobuya, Saji Hideo	4. 巻 52
2. 論文標題 Development of novel radioiodinated exendin-4 derivatives targeting GLP-1 receptor for detection of β -cell mass	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 116496 ~ 116496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2021.116496	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 -

1. 著者名 Murakami Takaaki, Fujimoto Hiroyuki, Hamamatsu Keita, Yamauchi Yuki, Kodama Yuzo, Fujita Naotaka, Fujikura Junji, Shimizu Yoichi, Nakamoto Yuji, Kimura Hiroyuki, Saji Hideo, Inagaki Nobuya	4. 巻 11
2. 論文標題 Distinctive detection of insulinoma using [18F]FB(ePEG12)12-exendin-4 PET/CT	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-94595-6	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 -

〔学会発表〕 計16件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 10件）

1. 発表者名 村上隆亮 藤本裕之 伊藤隆彦 浜松圭太 藤田直尚 稲垣暢也
2. 発表標題 脳内GLP-1受容体の 非侵襲的な可視化の試み
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamatsu K, Fujikura J, Inagaki N
2. 発表標題 Time-Based internationalized Characterization of Extendin-4-Based Glucagon-Like Peptide-1 Receptor-Targeting Imageing Probe
3. 学会等名 ADA 79th Scientific Sesssions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Yabe D, Inagaki N
2. 発表標題 Possible Availability of Glucagon-like peptide-1 receptor (GLP1R) -targeting imaging to predict GLP1R agonist 's efficacy.
3. 学会等名 The 11th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Yabe D, Inagaki N
2. 発表標題 Pancreatic beta cell imaging probe accounting for in-vivo GLP1R agonist 's efficacy.
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes(EASD) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Inagaki N
2. 発表標題 Non-invasive glucagon-like peptide 1receptor-targeting imaging as a promising tool of direct monitoring for β -cell mass preservation effect of anti-diabetic therapies.
3. 学会等名 Asia Islet Biology and incretin Symposium (AIBIS) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Yabe D, Inagaki N
2. 発表標題 β -cell mass and glucagon-like peptide-1 receptor (GLP1R)-targeted imaging probe in use of GLP1R agonist.
3. 学会等名 International Diabetes Federation Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上隆亮、藤本裕之、藤田直尚、浜松圭太、稲垣暢也.
2. 発表標題 縦断観察可能な非侵襲的膵 細胞量評価法を用いた、カロリー制限及びGPR119 アゴニストの 細胞保護効果の検討
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田直尚、藤本裕之、浜松圭太、村上隆亮、木村寛之、佐治英郎、稲垣暢也
2. 発表標題 非侵襲的膵 細胞定量法に関する比較検討：放射性同位元素標識プローブと生体発光イメージング
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上隆亮、藤本裕之、藤田直尚、浜松圭太、松本康嗣、稲垣暢也
2. 発表標題 非侵襲的膵イメージング技術 (111In-Exendin4 SPECT/CT) を用いた、新規GPR119アゴニスト (Ds-8500a) による 細胞保護効果の検討
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤本裕之
2. 発表標題 糖尿病の病態解明に向けた非侵襲的膵 細胞イメージング技術の開発
3. 学会等名 第1回COI学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Matsumoto K, Shiotani M, Saji H, Inagaki N.
2. 発表標題 Noninvasive Longitudinal Evaluation of GPR-119 Agonist Effects on β -Cell Mass Using GLP-1 Receptor-Targeting SPECT/CT.
3. 学会等名 ADA 78rd scientific sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hamamatsu K, Fujimoto H, Fujita N, Murakami T, Shiotani M, Saji H, Inagaki N.
2. 発表標題 Investigation on the Protective Effect of Canaglif. Investigation on the Protective Effect of Canagliflozon on Pancreatic Beta-Cell Mass Using SPECT/CT Imaging with 111In-Labeled Exendin-4.
3. 学会等名 ADA 78rd scientific sessions (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujita N, Fujimoto H, Hamamatsu K, Murakami T, Kimura H, Toyoda K, Saji H, Inagaki N.
2. 発表標題 Quantify beta cell mass non-invasively with PET probe: 18Fluorine-labelled Exendin4.
3. 学会等名 54th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Fujita N, Fujimoto H, Hamamatsu K, Murakami T, Kimura H, Toyoda K, Saji H, Inagaki N
2. 発表標題 Non-invasive and longitudinal quantification of BCM on NOD mice with SPECT probe.
3. 学会等名 12th IDF-WPR CONGRESS & 10th AASD Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Murakami T, Fujimoto H, Fujita N, Hamamatsu K, Matsumoto K, Inagaki N.
2. 発表標題 Non-invasive longitudinal evaluation of GPR119 agonist-induced β -cell mass preservation using GLP-1 receptor-targeting imaging technique.
3. 学会等名 12th IDF-WPR CONGRESS & 10th AASD Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村上 隆亮; 藤本裕之; 浜松 圭太; 山内雄揮; 児玉裕三; 中本裕士; 藤田直尚; 木村寛之; 佐治英郎; 稲垣暢也
2. 発表標題 多発性膵内分泌腫瘍モデルマウスを用いた新規18F標識GLP-1受容体標的イメージング法: 質的診断を伴う非侵襲的局所診断法の開発にむけて
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 藤本裕之	4. 発行年 2020年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 3
3. 書名 Diabetes Strategy TOPICS 最新の論文紹介	

1. 著者名 村上隆亮; 藤本裕之; 浜松圭太; 山内雄揮; 児玉裕三; 中本裕士; 藤田直尚; 木村寛之; 佐治英郎; 稲垣暢也	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本内分泌学会	5. 総ページ数 1
3. 書名 日本内分泌学会雑誌	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------