

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：24701
研究種目：若手研究
研究期間：2018～2020
課題番号：18K16242
研究課題名(和文) IRE1 を新規標的とした1型糖尿病治療薬-KIRA8-の有効性

研究課題名(英文) Effects of KIRA8 on type 1 diabetes targeting IRE1a

研究代表者
森田 修平 (Morita, Shuhei)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：50372868
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：IRE1 阻害薬KIRA8を1型糖尿病モデルマウスであるNODマウスに投与し、糖尿病病態が改善したマウス全てで、優位な高血糖の再発、体重変化、健康状態への影響はなく経過し、一定の長期効果が認められた。また、KIRA8の有効性に影響する因子の一つとして、nAChRシグナリングがIRE1 活性化や過剰な小胞体ストレスに対して臍 細胞保護的に働くことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、新規発症1型糖尿病モデルマウスにおいて細胞内小器官である小胞体を新規標的とした小分子化合物KIRAの長期効果を示した。また、臍 細胞においてKIRAの働きに影響を及ぼす因子の一つであると考えられるnAChR経路を同定しえた。これらの結果は、治療法の限局した1型糖尿病患者の病態の一旦を示すとともに、新規治療薬としてのKIRAの長期有効性を示唆すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：NOD mice reversed diabetes with KIRA8 were maintained reversed state without significant changes of body weight nor health condition. It is suggested that KIRA8 shows some long-term effects on NOD mice. In addition, we reported that nAChR signaling has protective effects against hyper-activation of IRE1 and excessive ER stress, suggesting that it could be one of the factors to affect the effect of KIRA.

研究分野：糖尿病

キーワード：小胞体ストレス

1. 研究開始当初の背景

近年、1型糖尿病モデル動物において糖尿病発症前に小胞体ストレスマーカーが膵細胞にて上昇するという知見が集積されつつある (Tersey SA et al, *Diabetes*, 2012; Engin F et al, *Sci Transl Med*, 2013)。また、1型糖尿病患者においても膵細胞における小胞体ストレスマーカー上昇の報告が認められる (Marhfour I, et al, *Diabetologia*, 2012)。1型糖尿病に対して、従来主に免疫システムをターゲットとして様々な治療薬の開発が行われてきた。しかしながら、人においてその効果は未だ限定的である。一方、小胞体にてタンパク質の折りたたみ異常にともなって引き起こされる反応は Unfolded Protein Response (UPR) として知られる。恒常的な小胞体ストレス下では Adaptive UPR (A-UPR) が引き起こされ、細胞の恒常性が保たれる。一方、不可逆的な小胞体ストレス下では Terminal UPR (T-UPR) が引き起こされ、細胞は最終的に apoptosis を引き起こす。申請者らは小胞体ストレスセンサーのひとつである IRE1 の活性化が A-UPR から T-UPR へと変換するスイッチとなり、細胞の apoptosis を決定する要因となることを示した (Ghosh et al, *Cell*, 2014)。さらに申請者らは IRE1 の allosteric kinase inhibitor である KIRA (kinase-inhibitory RNase attenuator) の開発を継続的に行ってきた (Wang et al, *Nat Chem Biol.*, 2012; Ghosh et al, *Cell*, 2014)。KIRA6 は A-UPR から T-UPR への変換を阻害することにより、小胞体ストレスによる細胞死を抑制し、さらに、膵細胞の小胞体ストレスにより糖尿病を引き起こす糖尿病モデルマウス (Akita マウス) にて治療の有効性を示した (Ghosh et al, *Cell*, 2014)。また我々は、NOD マウスにおいて短期的な KIRA の糖尿病治療効果を報告した (Morita et al, *Cell Metab*, 2017)。一方で、NOD マウスにおいて、さらなる mono-selectivity を追求した IRE1 inhibitor である KIRA8 の長期耐性と有効性の詳細な機序は不明である。

2. 研究の目的

1型糖尿病モデルマウスである NOD マウスを用い、新規発症マウスに対する発展型 KIRA である KIRA8 の治療薬としての長期耐性を検証する。一方、従来小胞体ストレスの影響を直接 UPR に反映すると考えられていた小胞体ストレスセンサー蛋白の働きは、近年、他の蛋白との相互作用や翻訳後修飾により UPR へ影響を及ぼすことが知られつつあり、注目されている。KIRA の NOD マウスに対する作用の影響を包括的に検討する上で本メカニズムの関与は本研究の遂行に重要であると考えられる。そこで、KIRA8 の有効性に関して、特に IRE1 に着目し KIRA の効果に影響を及ぼすこれら小胞体ストレス以外の要因につき検討を行う。

3. 研究の方法

一般的に NOD マウスにおいて、一度確立された糖尿病を治療する Reversal study は後述の糖尿病発症の予防効果を評価する Pre-diabetic study に比し、より強い治療効果が必要となる。したがって、本研究では NOD マウスを用いた Reversal study にて KIRA8 の治癒効果が長期に耐性を示さず認められるか否かを検証する。一方、IRE1 へに直接影響する因子として我々グループより既に報告を行った膵細胞におけるインスリン分泌能に影響を及ぼすニコチンアセチルコリンレセプター (nAChR) シグナリングに予備実験の結果とあわせ着目した。マウス単離膵島、ラットインスリノーマ由来 INS1 細胞、DOX 誘導性 IRE1 発現 INS1 細胞、また適切なグルコース応答能を持つヒト膵細胞 EndoC- H1 細胞等を主に用いて nAChR シグナリングの IRE1 への影響を検討する。

4 . 研究成果

KIRA8 投与後、最大 10-20 週までの長期経過を観察しえたコホートでは糖尿病病態が改善したマウス全てで高血糖を再発せず、また体重変化や健康状態への影響はなく経過している (n=6)。現時点では KIRA8 の長期有効性は認められるもののサンプル数が限局しており、今後更なるサンプル数での検証が必要であると考えられる。

一方で、IRE1 への影響候補因子として着目した nAChR について、7 サブユニットを含むいくつかの nAChR がヒトを含む膵細胞に実際に発現していることがまず確認された。次に nAChR シグナリングがグローバルで不可逆的な小胞体ストレスや IRE1 特異的な活性化によって引き起こされた T-UPR に対して細胞保護的に働くことを示した (Ishibashi et al, *J Diabetes Investig*, 2020)。今後 NOD マウスを含めた Vivo での検証が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Ishibashi Tatsuya, Morita Shuhei, Kishimoto Shohei, Uraki Shinsuke, Takeshima Ken, Furukawa Yasushi, Inaba Hidefumi, Ariyasu Hiroyuki, Iwakura Hiroshi, Furuta Hiroto, Nishi Masahiro, Papa Feroz R, Akamizu Takashi | 4. 巻 11(4) |
| 2. 論文標題 Nicotinic acetylcholine receptor signaling regulates inositol requiring enzyme?1 activation to protect cells against terminal unfolded protein response under irremediable endoplasmic reticulum stress | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation | 6. 最初と最後の頁 801-813 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/jdi.13211 | 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0件

〔図書〕 計0件

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|