

平成 21年 5月 15日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19390247
 研究課題名（和文） インスリン依存症 PI3 キナーゼが膵 細胞において増殖・再生
 ・分泌に果たす役割の解明
 研究課題名（英文） Study for the role of PI 3kinase in proliferation, regeneration
 and insulin secretion of pancreatic beta cells
 研究代表者
 植木浩二郎（UEKI KOHJIRO）
 東京大学 医学部附属病院 准教授
 研究者番号 00396714

研究成果の概要：

我々は、PI3K の活性化は 細胞の機能・増殖に重要であり、その低下が 2 型糖尿病におけるインスリン分泌不全に寄与していると仮説を立てた。これを証明するため膵 細胞特異的に PI3K の主要な調節サブユニットの一つである pik3r1 遺伝子をノックアウトしたマウス pik3r1KO を、またもう一つの主要な調節サブユニット pik3r2 null マウスと pik3r1KO を交配させて、細胞特異的な調節サブユニットの完全ノックアウト(p85DKO)マウスを作成した。pik3r1KO マウス、p85DKO マウスでは、グルコース依存性のインスリン分泌障害のため、高度の耐糖能障害を呈しており、p85DKO マウスでその障害はより顕著であった。このインスリン分泌の障害として、PI3K の下流である Akt の活性化の低下により apoptosis が亢進しており、細胞量の減少が p85DKO マウスでは有意に認められた、gap junction 形成因子 Connexin 36 の発現が有意に低下しており、通常はグルコース刺激に対して認められるラ氏島全 細胞の同調的インスリン分泌が障害されていた、インスリン分泌顆粒の exocytosis に重要な SNARE 蛋白複合体を形成する分子の発現が cluster として低下していることが cDNA マイクロアレイで確認された。多くの 2 型糖尿病患者では、グルコース応答性のインスリン分泌ことに第一相の低下を呈し、周期的同調的インスリン分泌 oscillation の低下や、経時的な 細胞量の低下を伴う。従って、本研究の成果から、インスリンシグナルの下流において PI3K が膵 細胞の機能や増殖に重要な役割を果たしており、2 型糖尿病では 細胞のインスリン抵抗性（インスリンシグナルの低下）が、細胞の量や機能の低下をもたらして病態を修飾していることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2008 年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
年度			
年度			
年度			
総 計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：再生医学、シグナル伝達、糖尿病

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病においては、グルコース応答性のインスリン分泌不全に加え、経年的な細胞量の減少が起き、糖尿病が発症・増悪することが知られている。したがって、2柄糖尿病における細胞の増殖・機能不全のメカニズムを解明し、その鍵分子を決定できれば、その分子をターゲットにした新しい糖尿病治療法の開発につながる事が期待される。一方、我々は、膵β細胞においてもインスリン受容体(IR)が存在しており、グルコースなどによって分泌されたインスリンがIRを介して膵β細胞でもPI3Kシグナルを伝えていることを明らかにし、それが膵細胞の増殖や機能に重要である可能性を示してきた (Ueki et al. Nat Genet 2006)。

2. 研究の目的

上記のような背景から、我々は、2型糖尿病ではβ細胞でのインスリン作用の不足により、PI3Kシグナルが低下してβ細胞の増殖・分泌能が障害されているとの作業仮説をたて、これを検証して、インスリン・PI3Kシグナルをターゲットにした新しい2型糖尿病治療法の開発につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

PI3Kの主要な調節サブユニットの一つであるpik3r1遺伝子をノックアウトしたマウスpik3r1KOを、またもう一つの主要な調節サブユニットpik3r2 nullマウスとpik3r1KOを交配させて、細胞特異的な調節サブユニットの完全ノックアウト(p85DKO)マウスを作成した。これらのマウスの、血糖値、インスリン分泌、耐糖能を観察した。膵ラ氏島の組織染色などにより、その増殖能やインスリン分泌能を検討した。また、単離した膵ラ氏島におけるインスリン分泌能や、インスリン分泌に関わる遺伝子の発現を検討した。

4. 研究成果

pik3r1KOマウス、p85DKOマウスはともに(後者がより強く)グルコース応答性のインスリン分泌低下と細胞増殖障害を持つことが明らかとなった。インスリン分泌はことにグルコースに対する初期分泌が低下しており、2型糖尿病の病態と類似していた。このインスリン分泌の障害として、PI3Kの下流であるAktの活

性の低下によりapoptosisが亢進しており、細胞量の減少がp85DKOマウスでは有意に認められた、gap junction形成因子Connexin 36の発現が有意に低下しており、通常はグルコース刺激に対して認められるラ氏島全細胞の同調的インスリン分泌が障害されていた、インスリン分泌顆粒のexocytosisに重要なSNARE蛋白複合体を形成する分子の発現がclusterとして低下していることがcDNAマイクロアレイで確認された。多くの2型糖尿病患者では、グルコース応答性のインスリン分泌ことに第1相の低下を呈し、周期的同調的インスリン分泌oscillationの低下や、経時的な細胞量の低下を伴う。従って、本研究の成果から、インスリンシグナルの下流においてPI3Kが膵細胞の機能や増殖に重要な役割を果たしており、2型糖尿病では細胞のインスリン抵抗性(インスリンシグナルの低下)が、細胞の量や機能の低下をもたらして病態を修飾していることが示唆された。

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 9件)

1. Assmann A, Ueki K, Winnay JN, Kadowaki T, Kulkarni RN: Glucose effects on beta-cell growth and survival require activation of insulin receptors and insulin receptor substrate-2. *Mol Cell Biol*, 29:3219-3228, 2009 (査読有)
2. Torii S, Saito N, Kawano A, Hou N, Ueki K, Kulkarni RN, Takeuchi T: Gene silencing of phogrin unveils its essential role in glucose-responsive pancreatic beta-cell growth. *Diabetes* 58:682-692, 2009 (査読有)
3. Kurabe N, Arai S, Nishijima A, Kubota N, Suizu F, Mori M, Kurokawa J, Kondo Miyazaki M, Ide T, Murakami K, Miyake K, Ueki K, Koga H, Yatomi Y,

- Tashiro F, Noguchi M, Kadowaki T, Miyazaki T: The Death Effector Domain-containing DEED Supports S6K1 Activity via Preventing Cdk1-dependent Inhibitory Phosphorylation. *J Biol Chem* 284:5050-5055, 2009 (査読有)
4. Hisanaga E, Nagasawa M, Ueki K, Kulkarni RN, Mori M, Kojima I: Regulation of calcium-permeable TRPV2 channel by insulin in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 58:174-184, 2009 (査読有)
 5. Takamoto I, Terauchi Y, Kubota N, Ohsugi M, Ueki K, Kadowaki T: Crucial role of insulin receptor substrate-2 in compensatory beta-cell hyperplasia in response to high fat diet-induced insulin resistance. *Diabetes Obes Metab* 10 Suppl 4:147-156, 2008 (査読有)
 6. Kubota N, Kubota T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Mineyama T, Ogata H, Tokuyama K, Ohsugi M, Sasako T, Moroi M, Sugi K, Kakuta S, Iwakura Y, Noda T, Ohnishi S, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Kadowaki T: Dynamic Functional Relay between Insulin Receptor Substrate 1 and 2 in Hepatic Insulin Signaling during Fasting and Feeding. *Cell Metab* 8:49-64, 2008 (査読有)
 7. Taniguchi CM, Aleman JO, Ueki K, Luo J, Asano T, Kaneto H, Stephanopoulos G, Cantley LC, Kahn CR: The p85alpha regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase potentiates c-Jun N-terminal kinase-mediated insulin resistance. *Mol Cell Biol* 27:2830-2840, 2007 (査読有)
 8. Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T: Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab* 6:55-68, 2007 (査読有)
 9. Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Nagai R, Ueki K, Froguel P, Kadowaki T: Variations in the HHEX gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia* 50:2461-2466, 2007 (査読有)
- [学会発表](計6件)
1. 植木浩二郎、門脇孝、藤 細胞におけるインスリンシグナルの役割、第23回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会シンポジウム 2009.2.14 岡山
 2. 金子和真、植木浩二郎、門脇孝、Role of Class 1A PI3 kinase in pancreatic beta cells、第68回アメリカ糖尿病学会 oral session 2008.6.8 サンフランシスコ
 3. 金子和真、植木浩二郎、門脇孝、藤 細胞における Class IA PI3 キナーゼの役割、第51回日本糖尿病学会年次学術集会 oral session 2008.5.23 東京
 4. 植木浩二郎、日本人におけるインスリン抵抗性と膵島機能不全、第42回糖尿病学の進歩シンポジウム、2008.2.15 高松
 5. 金子和真、植木浩二郎、門脇孝、Role of Class 1A PI3 kinase in pancreatic beta cells、第67回アメリカ糖尿病学会 oral session 2007.6.24 シカゴ
 6. 金子和真、植木浩二郎、門脇孝、藤 細胞における Class IA PI3 キナーゼの役割、第50回日

本糖尿病学会年次学術集会 oral session

2007.5.25 仙台

〔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〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植木 浩二郎 (UEKI KOHJIRO)

東京大学 医学部附属病院・准教授

研究者番号：00396714

(2) 研究分担者

窪田 直人 (KUBOTA NAOTO)

東京大学 医学部附属病院・特任准教授

研究者番号：50396719

門脇 孝 (KADOWAKI TAKASHI)

東京大学 医学部附属病院・教授

研究者番号：30185889

(3) 連携研究者