

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07506

研究課題名（和文）糖尿病の膵 細胞脱分化に対する治療標的の同定と予防法の開発

研究課題名（英文）The identification of therapeutic targets for pancreatic beta-cell dedifferentiation leading diabetes

研究代表者

椎木 幾久子（阿望幾久子）（Shiinoki, Kikuko）

山口大学・医学部・助教(連携講座)

研究者番号：60609692

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）：ウォルフラム症候群は膵 細胞が未成熟な細胞に変容する、すなわち脱分化することでインスリン分泌が低下し糖尿病を発症する。本研究において、疾患モデルマウスWfs1欠損マウスの 細胞では小胞体ストレスが亢進しTxnip蛋白の発現が著しく増加しており、Txnipはエネルギー代謝を抑制的に制御することを突き止めた。Wfs1欠損マウスでTxnipを欠損させるとエネルギー代謝障害および脱分化が抑制され、糖尿病の発症を予防した。Txnipが脱分化の治療標的として有望である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病はインスリン不足により発症する。インスリンを分泌する 細胞数が減少する原因については不明点が多く、有効な治療法も確立されていない。本研究では 細胞脱分化阻止を標的とした新たな糖尿病治療法を提唱する。本研究で着目したウォルフラム症候群は希少な遺伝疾患であるが、発症メカニズムは有病者数の多い2型糖尿病と共通項が多く、本研究成果はウォルフラム症候群だけでなく一般の糖尿病の病態解明および治療法の開発に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In Wolfram syndrome, pancreatic beta-cells become dedifferentiated, leading to diabetes. We investigated the mechanisms underlying beta-cell dedifferentiation in Wfs1-deficient mice, a mouse model of Wolfram syndrome. We found that the expression of Txnip protein was markedly increased, and that Txnip suppressed energy metabolism in Wfs1-deficient islets. Txnip-deficiency restored the function of energy metabolism and beta-cell maturity, and prevented diabetes in Wfs1-deficient mice. These findings suggest that Txnip could be a therapeutic target for beta-cell dedifferentiation.

研究分野：代謝学

キーワード：糖尿病 膵 細胞 脱分化 小胞体ストレス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

機能的 細胞量の減少は糖尿病の重要な成因であるが、これを阻止する有効な方法は確立されておらず、細胞数減少のメカニズムには不明な点が多い。近年、膵島細胞の可塑性が明らかにされ、糖尿病病態における細胞可塑性の制御機構に注目が集まっている。研究代表者はインスリン依存性糖尿病を主徴とする遺伝疾患 Wolfram 症候群の疾患モデルであり、小胞体ストレス病態モデルである *Wfs1* 欠損マウスにおいて、成体膵 細胞が高血糖非依存的に脱分化することでインスリン産生能を失い、一部の細胞では 細胞へ分化転換することを見出した。Wolfram 症候群では、WFS1 機能異常による小胞体ストレス亢進が病態の本質と考えられてきたが、*Wfs1* 欠損細胞は、高血糖を呈する前よりグルコース異化障害に基づく ATP 産生障害を示す。大量のインスリンを生成・分泌する 細胞は酸化的解糖により大量の ATP を産生するが、このような代謝特性は細胞形質維持に深く関与すると考えられる。*Wfs1* 欠損 細胞では恒常的なストレス応答に大量の ATP 消費を強いられるためエネルギー代謝不全に陥ると考えられ、このことが 細胞脱分化において重要な鍵を握る。一方、*Wfs1* 欠損 細胞の ATP 産生障害は、ストレス応答分子 Thioredoxin-interacting protein (Txnip) の欠損により改善した。すなわち、細胞内ストレス亢進とエネルギー代謝制御の関わりが推察され、脱分化誘導におけるその重要性が考えられた。

### 2. 研究の目的

*Wfs1* 欠損マウスにおける 細胞の分子病態について、細胞内ストレスによる細胞内エネルギー代謝調節機構、および脱分化誘導における細胞内エネルギー代謝不全の意義を解明する。これらを踏まえて、ストレス応答分子を標的とする脱分化阻止を明らかにし、脱分化を標的とした糖尿病の新たな治療戦略と分子基盤を創出する。

### 3. 研究の方法

(1) 高血糖発症前の 8-12 週齢 *Wfs1* 欠損マウスの単離膵島を用いて細胞外フラックスアナライザーにより高グルコース負荷下における解糖系代謝活性、グルコース酸化能、ミトコンドリア機能を解析した。本研究に先行して実施した *Wfs1* 欠損マウス単離膵島のメタボローム解析と合わせて細胞内ストレス亢進下における脱分化 細胞の代謝特性を解析した。

(2) Txnip によるピルビン酸脱水素酵素 (pyruvate dehydrogenase, PDH) 活性制御機構をマウス単離膵島および HEK293 細胞を用いて解析した。

(3) *Wfs1* 欠損マウスと *Txnip* 欠損マウスを交配して二重欠損マウスを樹立し、耐糖能およびインスリン分泌能評価、膵組織解析を行った。また、*Wfs1:Txnip* 二重欠損:Rosa26-YFP:RIP-Cre マウスを作成し 細胞の遺伝的系譜解析を実施した。

(4) *Wfs1:Txnip* 二重欠損マウス単離膵島について(1)と同様に代謝動態を解析した。

(5) Txnip 発現抑制作用を有する糖尿病治療薬である GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 を *Wfs1* 欠損マウスに 6 週齢より 4 週間投与し、耐糖能およびインスリン分泌能評価、膵組織解析を実施した。

### 4. 研究成果

(1) *Wfs1* 欠損膵島におけるエネルギー代謝障害と Txnip 欠損による代謝改善および脱分化抑制効果

*Wfs1* 欠損マウス膵島では、脱分化の初期よりグルコースの酸化的解糖活性が低下していた。一方で脂肪酸酸化には変化がなく、関連するミトコンドリア機能障害は認められなかった。一方、メタボローム解析より *Wfs1* 欠損マウス膵島では解糖系中間代謝物およびピルビン酸量が増加するが、アセチル CoA およびクエン酸量は低下、すなわちクエン酸回路が減弱しており ATP 含量も低下した。*Wfs1* 欠損マウス膵島ではピルビン酸からアセチル CoA に変換する酵素 PDH の機能抑制性リン酸化が亢進しており、PDH の活性低下によるピルビン酸からアセチル CoA への変換障害がエネルギー代謝障害の一因と考えられた。このメカニズムとして *Wfs1* 欠損マウス膵島においてその蛋白質発現が著増している Txnip が PDH と PDH kinase と蛋白結合を介して PDH のリン酸化調節に関与することを突き止めた。さらに、*Wfs1:Txnip* 二重欠損マウス膵島では PDH のリン酸化亢進が解消されており、高グルコース負荷下の解糖速度、酸素消費速度、ATP 産生およびインスリン分泌が野生型と同等にまで回復した。細胞の遺伝的系譜解析により *Wfs1:Txnip* 二重欠損マウスでは 細胞の脱分化および 細胞への分化転換が抑制されることを明らかにした。また *Wfs1:Txnip* 二重欠損マウスの 50 週齢までの観察において全個体で高血糖の進展が予防された。一方で、*Wfs1:Txnip* 二重欠損マウス膵島では小胞体ストレス応答はむしろ亢進しており、Txnip の代謝機能制御を介した脱分化誘導への関与が示唆された。

## (2)薬理的 Txnip 抑制による脱分化抑制効果

研究代表者は *Wfs1* 欠損マウス膵島における Txnip の mRNA および蛋白質発現亢進が GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 によって抑制されることを見出し (文献 1、図 1) *Wfs1* 欠損マウスに Exendin-4 を慢性投与したところ、耐糖能が改善しインスリン分泌が回復した。この時の膵組織を解析した結果、Exendin-4 慢性投与マウスにおいて MafA 陽性細胞 (成熟細胞) 数の回復と膵内分泌前駆細胞マーカー Neurogenin3 陽性細胞 (脱分化細胞) 数の低下を認めたことから、GLP-1 治療による脱分化抑制が示唆された。

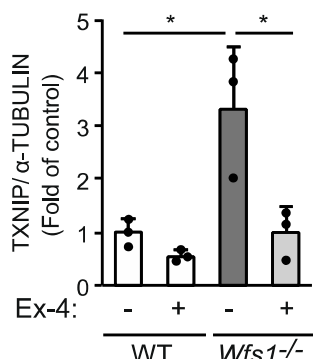


図 1. *Wfs1* 欠損膵島における Txnip 蛋白発現亢進と Exendin-4 による Txnip 発現抑制効果

## (3) 2 型糖尿病における病態進展と脱分化の関連

研究代表者は Wolfram 症候群患者の剖検膵を用いた免疫組織解析を行いヒトにおいてもマウスと同様の細胞可塑性を確認しており、Wolfram 症候群では膵島細胞の可塑性に基づく細胞脱分化が糖尿病の病態の根幹であることが示唆される。したがって、本研究成果は、Wolfram 症候群における細胞不全の分子病態解明とともに Txnip を標的とした新たな治療戦略の提案につながるも期待される。また、研究代表者は 2 型糖尿病患者の外科切除膵を用いて組織解析を実施し、2 型糖尿病患者では細胞の進行性減少とともに脱分化細胞量が増加しており、この脱分化細胞量増加はインスリン分泌能の進行性低下と関連することを明らかにした (文献 2、図 2)。これらのことから 2 型糖尿病においても細胞脱分化が病態進展に関連することが強く示唆されており、本研究成果は Wolfram 症候群のみならず 2 型糖尿病の細胞の病態理解にも寄与すると考えられる。

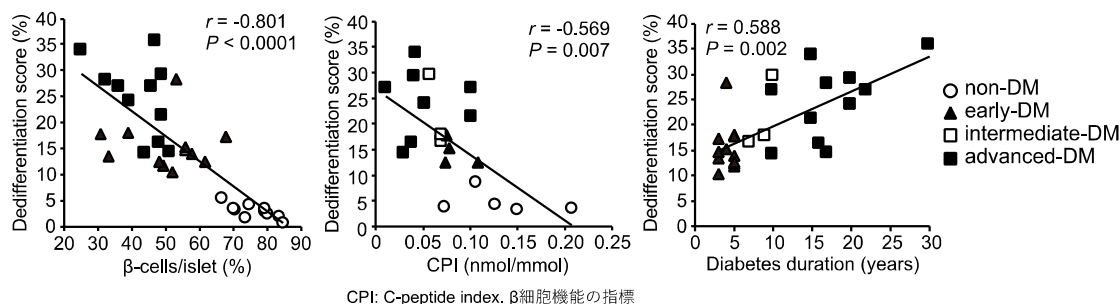


図 2. 2 型糖尿病の病態進展における脱分化細胞数の増加

脱分化細胞量は膵島あたりのβ細胞量およびβ細胞機能と逆相関、罹患期間と正相関を示した。

## < 文献 >

1. Manabu Kondo, Katsuya Tanabe, Kukuko Amo-Shiinoki, Masayuki Hatanaka, Tsukasa Morii, Harumi Takahashi, Susumu Seino, Yuichiro Yamada, Yukio Tanizawa: Activation of GLP-1 receptor signalling alleviates cellular stresses and improves beta cell function in a mouse model of Wolfram syndrome. *Diabetologia* 61(10):2189-2201 (2018). DOI: 10.1007/s00125-018-4679-y.
2. Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Yoshinobu Hoshii, Hiroto Matsui, Risa Harano, Tatsuya Fukuda, Ryotaro Bouchi, Tokiyo Takagi, Masayuki Hatanaka, Komei Takeda, Shigeru Okuya, Wataru Nishimura, Atsushi Kudo, Shinji Tanaka, Minoru Tanabe, Takumi Akashi, Tetsuya Yamada, Yoshihiro Ogawa, Eiji Ikeda, Hiroaki Nagano, Yukio Tanizawa: Islet cell dedifferentiation is a pathologic mechanism of longstanding progression of type 2 diabetes. *JCI Insight* 6(1): e143791 (2021). DOI: 10.1172/jci.insight.143791.

## 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 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kagawa Syota, Tanabe Katsuya, Hiromura Makoto, Ogawa Kakuyou, Koga Takayuki, Maeda Takahiro, Amo-Shiinoki Kikuko, Ochi Hiroyuki, Ichiki Yui, Fukuyama Shogo, Suzuki Saori, Suizu Natsuki, Ohmine Takaaki, Hamachi Sakurako, Tsuneki Hiroshi, Okuya Shigeru, Sasaoka Toshiyasu, Tanizawa Yukio, Nagashima Fumihiro	4. 巻 14
2. 論文標題 Hachimijiogan, a traditional herbal medicine, modulates adipose cell function and ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1167934
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2023.1167934	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 Nagao Yuko, Amo-Shiinoki Kikuko, Nakabayashi Hiroko, Hatanaka Masayuki, Kondo Manabu, Matsunaga Kimie, Emoto Masahiro, Okuya Shigeru, Tanizawa Yukio, Tanabe Katsuya	4. 巻 23
2. 論文標題 Gsk-3-Mediated Proteasomal Degradation of ATF4 Is a Proapoptotic Mechanism in Mouse Pancreatic -Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 13586-13586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms232113586	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 Amo-Shiinoki K, Tanabe K, Hoshii Y, Matsui H, Harano R, Fukuda T, Takeuchi T, Bouchi R, Takagi T, Hatanaka M, Takeda K, Okuya S, Nishimura W, Kudo A, Tanaka S, Tanabe M, Akashi T, Yamada T, Ogawa Y, Ikeda E, Nagano H, Tanizawa Y	4. 巻 6
2. 論文標題 Islet cell dedifferentiation is a pathologic mechanism of long-standing progression of type 2 diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e143791
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.143791	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 Fukuda Tatsuya, Bouchi Ryotaro, Takeuchi Takato, Amo-Shiinoki Kikuko, Kudo Atsushi, Tanaka Shinji, Tanabe Minoru, Akashi Takumi, Hirayama Kazuhiro, Odamaki Toshitaka, Igarashi Miki, Kimura Ikuo, Tanabe Katsuya, Tanizawa Yukio, Yamada Tetsuya, Ogawa Yoshihiro	4. 巻 44
2. 論文標題 Importance of Intestinal Environment and Cellular Plasticity of Islets in the Development of Postpancreatectomy Diabetes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes Care	6. 最初と最後の頁 1002-1011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/dc20-0864	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 奥屋茂, 谷澤幸生
2. 発表標題 糖尿病における膵島細胞の可塑性と脱分化
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Zou Meng, 田部 勝也, 椎木 幾久子, 田口 昭彦, 河野 大輔, 北村 忠弘, 奥屋 茂, 増谷 弘, 谷澤 幸生
2. 発表標題 Txnip preserves brown fat innate thermogenic activity
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椎木幾久子, 田部勝也, 幡中雅行, 奥屋茂, 福田達也, 竹内崇人, 坊内良太郎, 山田哲也, 小川佳宏, 谷澤幸生
2. 発表標題 膵 細胞脱分化は2型糖尿病の病態進展に関連する
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 Kikuko Amo-Shiinoki, Katsuya Tanabe, Ryotaro Bouchi, Wataru Nishimura, Yoshihiro Ogawa, Yukio Tanizawa
2. 発表標題 Islet beta-cell dedifferentiation is involved in progression of type 2 diabetes
3. 学会等名 80th Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 椎木幾久子, 田部勝也, 西村渉, 幡中雅行, 佐藤吉彦, 駒津光久, 増谷弘, 谷澤幸生
2. 発表標題 Wolfram症候群をモデルとした細胞内ストレスによる膵 細胞可塑性制御の解明
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Katsuya Tanabe, Kikuko Amo-Shiinoki, Manabu Kondo, Masayuki Hatanaka, Hiroshi Masutani, Yukio Tanizawa
2. 発表標題 Activation of GLP-1 receptor signalling prevents beta cell dedifferentiation in a mouse model of Wolfram syndrome through modulating Txnip expression
3. 学会等名 79th Scientific Sessions of American Diabetes Association (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 椎木幾久子, 田部勝也, 佐藤吉彦, 駒津光久, 谷澤幸生
2. 発表標題 膵 細胞脱分化は糖尿病患者の膵 細胞不全に関連する
3. 学会等名 第69回日本体質医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukio Tanizawa, Katsuya Tanabe, Kikuko Amo-Shiinoki
2. 発表標題 Metabolic dysregulation by cellular stress is implicated in the dedifferentiation and dysfunction of pancreatic cells
3. 学会等名 55th Annual Meeting of EASD (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 椎木幾久子, 田部勝也, 谷澤幸生	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学出版社	5. 総ページ数 96
3. 書名 月刊糖尿病	

〔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
---------	---------