

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：35303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08990

研究課題名(和文) 膵 細胞機能を高める新規糖尿病治療薬の探索

研究課題名(英文) Comprehensive searching for compounds which can directly enhance MafA and/or PDX-1 expression

研究代表者

金藤 秀明 (Kaneto, Hideaki)

川崎医科大学・医学部・教授

研究者番号：80448034

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)：インスリン遺伝子の転写因子であるMafAおよびPDX-1は膵 細胞において極めて重要な役割を果たしているも、それらの発現は糖尿病状態において低下し、これがブドウ糖毒性に深く関連している。本検討においては、これらの転写因子の発現を増加させる因子を網羅的に検索した。具体的には小分子ライブラリーを順次 細胞株MIN6に投与して、MafAやPDX-1の発現を増やす因子を網羅的に検索し、現在までのスクリーニングにて既にいくつかの因子を同定した。MIN6細胞にて変化を認めた薬剤に関しては健常マウスおよび糖尿病マウスからの単離膵島においても同じ結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回申請させて頂いた研究においては、各種小分子化合物ライブラリーを用いて、ブドウ糖毒性で低下するMafAやPDX-1の発現を直接増加させる薬剤や因子を網羅的に検索し、膵 細胞機能障害の分子機構に基づいた新規糖尿病治療薬の探索を目的とした。MafA や PDX-1 の発現を直接増加させる因子はまだ世界でも報告がないため、見つければ世界に先駆けた報告であり、また膵 細胞機能障害の分子メカニズムに基づいた新規糖尿病治療薬の探索にも繋がるため、研究成果の学術的意義や社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：It has been shown that chronic hyperglycemia gradually decreases insulin biosynthesis and secretion which is accompanied by reduced expression of very important insulin gene transcription factors MafA and PDX-1. The down-regulation of MafA and/or PDX-1 expression considerably explains the molecular mechanism for glucose toxicity. It remained unknown, however, which molecules can directly enhance MafA and/or PDX-1 expression. In this study, we searched for compounds which can directly enhance MafA and/or PDX-1 expression using a small molecule compound library in pancreatic beta-cell line MIN6 cells and islets isolated from non-diabetic C57BL/6 mice and obese type 2 diabetic C57BL/KsJ-db/db mice. As the results, we found that two molecules increased MafA, PDX-1 or insulin expression in MIN6 cells and islets isolated from non-diabetic mice and obese type 2 diabetic db/db mice.

研究分野：糖尿病

キーワード：ブドウ糖毒性

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病の特徴は、膵細胞におけるインスリンの生合成、分泌の低下およびインスリン標的臓器(肝臓、骨格筋、脂肪)でのインスリン抵抗性である。そして高血糖が持続すると、膵細胞におけるインスリン生合成および分泌障害はさらに顕著化し、インスリン抵抗性はさらに増加するという悪循環に陥る。この現象は高血糖毒性として臨床的にも広く知られている。申請者らはこれまでにこの高血糖毒性の分子機構にインスリン遺伝子の極めて重要な転写因子 MafA および PDX-1 の発現の低下が深く関与すること、またその分子メカニズムなどに関して論文報告している。さらに、Cre-loxP システムを用いて膵細胞特異的に、またタモキシフェン誘導性に MafA を発現する肥満 2 型糖尿病モデルマウスを作成し検討した結果、MafA の発現を保持させておくと、インスリン生合成、グルコース応答性インスリン分泌が回復し、血糖コントロールが改善することも報告しており、MafA の発現低下が膵細胞機能障害に深く関与していることが明らかとなっている。

## 2. 研究の目的

糖尿病状態で膵細胞が慢性的に高血糖に曝されると、膵細胞におけるインスリン生合成や分泌はさらに低下し、血糖コントロールが悪化するという悪循環に陥る。この現象はブドウ糖毒性として臨床的にも広く知られている。申請者らはこれまで一貫してこのブドウ糖毒性の分子機構の研究に携わっており、インスリン遺伝子の転写因子(MafA, PDX-1)の発現低下が深く関与することを報告している。しかしながら、これまでには MafA や PDX-1 の発現を直接増加させる薬剤のスクリーニングは行われてない。そうした中で、本検討の目的は、種々の小分子化合物ライブラリーを用いてこれらの発現を直接的に増加させる薬剤や因子を網羅的に検索して、ブドウ糖毒性の分子機構に基づく新規糖尿病治療薬の検索をすることである。

## 3. 研究の方法

インスリン遺伝子の転写因子である MafA および PDX-1 は膵細胞において極めて重要な役割を果たしているも、それらの発現は糖尿病状態において低下し、これが臨床的にもしばしば認められるブドウ糖毒性に深く関連している。本検討においては、これらの転写因子の発現を増加させる因子を網羅的に検索する。具体的には G protein-coupled receptor (GPCR) に結合する小分子化合物ライブラリーをはじめとする各種の小分子ライブラリーを順次細胞株 MIN6 に投与して、MafA や PDX-1 の発現を増やすことのできる因子を網羅的に検索する。その際にインスリンの発現も増やしているかも同時に検討して総合的に評価する。mRNA を増やすことが確認できた因子に関しては、MafA や PDX-1 の蛋白量の変化を確認する。さらに MIN6 細胞で得られた結果が健常マウスからの単離膵島においても同じ結果が得られるかを確認する。さらに(MafA や PDX-1 の発現が低下している)糖尿病モデルマウスからの単離膵島においても同じ結果が得られるか否かを確認する。

#### 4 . 研究成果

申請者らは既に、膵 細胞株 MIN6 において、小分子化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを順次行っており、MIN6 細胞において MafA や PDX-1 の発現を増加させる因子をいくつか同定した。既に同定された薬剤に関しては、蛋白量の変化なども検討済みである。また、健常マウスからの単離膵島においても同じ結果が得られることも確認し、さらに (MafA や PDX-1 の発現が低下している) 糖尿病モデルマウスからの単離膵島においても同じ結果が得られることも確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kaneto H, Obata A, Kimura T, Shimoda M, Kinoshita T, Matsuoka T, and Kaku K.	4. 巻 22
2. 論文標題 Unexpected pleiotropic effects of SGLT2 inhibitors: Pearls and pitfalls of this novel antidiabetic class.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22063062	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

1. 著者名 Kaneto H, Obata A, Kimura T, Shimoda M, Sanada J, Fushimi Y, Katakami N, Matsuoka T, and Kaku K.	4. 巻 21
2. 論文標題 Notable underlying mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction and atherosclerosis: Pleiotropic role of incretin and insulin signaling in various situation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21249444	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

1. 著者名 Obata A, Kimura T, Obata Y, Shimoda M, Kinoshita T, Kohara K, Okauchi S, Hirukawa H, Kamei S, Nakanishi S, Mune T, Kaku K, and Kaneto H.	4. 巻 62
2. 論文標題 Vascular endothelial PDK1 plays pivotal roles for maintenance of pancreatic beta-cell mass and function in adult male mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diabetologia	6. 最初と最後の頁 1225-1236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00125-019-04982-y	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金藤 秀明
2. 発表標題 2型糖尿病の病態と治療に関するトピックス
3. 学会等名 第42回 日本肥満学会 ランチョンセミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金藤 秀明
2. 発表標題 2型糖尿病治療のトピックス ～インクレチン製剤を中心に～
3. 学会等名 第56回 糖尿病学の進歩 共催セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金藤 秀明
2. 発表標題 糖尿病治療の早期治療強化においてGLP-1受容体作動薬が果たす役割
3. 学会等名 第56回 糖尿病学の進歩 共催セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金藤 秀明
2. 発表標題 2型糖尿病における早期治療強化の重要性 ～GLP-1受容体作動薬を中心に～
3. 学会等名 第55回 糖尿病学の進歩
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金藤 秀明
2. 発表標題 膵 細胞保護に関する知見
3. 学会等名 第55回 糖尿病学の進歩
4. 発表年 2021年

〔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
研究 分担者	小畑 淳史  (Obata Atsushi)  (10771298)	川崎医科大学・医学部・特任研究員   (35303)	
研究 分担者	下田 将司  (Shimoda Masashi)  (60388957)	川崎医科大学・医学部・講師   (35303)	

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