

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09024

研究課題名（和文）2型糖尿病患者の発症前最高体重と膵細胞特性についての組織学的検討

研究課題名（英文）Histological analysis of the associations between maximum body mass index before onset of type 2 diabetes and pancreatic beta-cell characteristics

研究代表者

福井 健司（Fukui, Kenji）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい准教授

研究者番号：60513009

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）：2型糖尿病発症前既往最高BMI(MBBO)が、内因性インスリン分泌能（J Endocr Soc, 2020）、糖尿病細小血管合併症（BMJ Open Diabetes Res Care, 2021）の予測に有用であることを示した。培養細胞株、ヒト膵組織の検討から、高濃度インスリンによる細胞のインスリン分泌障害（Biochem Biophys Res Commun, 2021）、MBBOに着眼した細胞を含む膵島組織所見（J Diabetes, 2023）を明らかにした。MBBOに着目することで、2型糖尿病患者の病態、細小血管合併症、膵島組織所見に新たな知見を加えることとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2型糖尿病患者はわが国においても増加の一途をたどり大きな社会問題であり、糖尿病専門医のみならず、非専門医の果たす役割は大きくなっている。そのような中、多岐にわたるさまざまな血糖降下薬が上市されており、これらの中から、いかに安全かつ効果的に薬剤選択を行うかが重要となっている。今回の研究成果により、糖尿病患者の病態、合併症を的確に把握し、細胞機能、細胞を含む膵島組織学的特性を理解して適切に薬剤選択を行うことに繋がりと考える。MBBOは簡便かつ非侵襲的な指標であり、今回の成果は臨床的有用性のみならず経済的側面を含めて社会的な意義が高いと考える。

研究成果の概要（英文）：We have shown that the maximum body mass index before onset of type 2 diabetes (MBBO) is predictive of insulin secretory capacity (J Endocr Soc, 2020) and diabetic microvascular complications (BMJ Open Diabetes Res Care, 2021) in patients with type 2 diabetes. The results of the study of cultured  $\beta$ -cell lines and human pancreatic tissue revealed that high concentrations of insulin impair insulin secretion by  $\beta$ -cells (Biochem Biophys Res Commun, 2021) and that the histological findings of islets including  $\beta$ -cells with a focus on MBBO (J Diabetes, 2023). The focus on MBBO adds new insights into the pathogenesis, microvascular complications, and islet histology of patients with type 2 diabetes mellitus.

研究分野：糖尿病

キーワード：2型糖尿病 インスリン分泌能 糖尿病細小血管合併症 膵島 細胞 細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1 . 研究開始当初の背景

2 型糖尿病発症前の肥満程度は症例ごとに大きく異なり、糖尿病発症前の最高の肥満程度 (Maximum body mass index before onset of type 2 diabetes; MBBO) は、肥満に伴うインスリン需要量の増大に対して代償するインスリン分泌能、すなわち膵細胞機能の最大状態を反映していると考えられる。申請者らのグループはこれまでに膵切除術を受けた患者膵の組織学的検討から、耐糖能悪化過程でのアポトーシスの増加による細胞量の低下 (引用文献 1)、細胞量に対する細胞量比の増加 (引用文献 2) と転写因子発現の変化 (引用文献 3)、膵細胞量と内因性インスリン分泌能との関連 (引用文献 4)、膵脂肪化と膵島の炎症 (引用文献 5) ならびに耐糖能悪化 (引用文献 6) との関連等について明らかにしてきた。

## 2 . 研究の目的

2 型糖尿病患者の発症前既往最高 BMI (MBBO) に着目して、MBBO と膵細胞を含む膵島組織学的特徴、膵細胞機能、糖尿病細小血管合併症を含む患者臨床背景との関連を明らかにする。

## 3 . 研究の方法

### 検討 1 : MBBO と膵細胞機能との関連

2010 年 8 月 1 日 ~ 2017 年 6 月 30 日までに当科に入院した 2 型糖尿病患者 1304 名のうち、担癌患者、糖尿病性腎症 4 期以上等の患者を除き、発症前既往最高 BMI の情報があり、グルカゴン負荷試験を実施しえた患者 410 名を対象とした。年齢、性別、罹病期間、MBBO、入院時 BMI、HbA1c、グルカゴン負荷試験時の空腹時血糖と内因性インスリン分泌能を示す C ペプチドインデックスを調査した。

### 検討 2 : MBBO と糖尿病細小血管合併症との関連

上記患者 1304 人のうち、MBBO を確認しえた 435 人を登録した。単変量解析と多変量ロジスティック回帰分析を行い、MBBO または入院時 BMI が進行した糖尿病性網膜症または腎症と関連するかどうかを検討した。

### 検討 3 : 細胞外インスリンの細胞への影響

インスリンノーマ患者 5 名と、対照として正常耐糖能患者 5 名の正常膵細胞におけるグルコーストランスポーター 2 (GLUT2) およびグルカゴン様ペプチド 1 受容体 (GLP1R) の発現を検討した。膵細胞株である MIN6 細胞にインスリンを負荷、GLUT2、GLP1R の遺伝子と蛋白発現を q-PCR とウェスタンブロットングで検討した。

### 検討 4 : MBBO と膵島組織学的所見の関連

当院消化器外科において膵部分切除術を受けた 2 型糖尿病患者 20 名を登録した。免疫組織化学的解析により細胞および細胞の膵切片に対する相対的な面積 (面積率) を評価し、MBBO  $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$  と MBBO  $< 25\text{kg}/\text{m}^2$  の 2 群間、入院時 BMI  $\geq 21\text{kg}/\text{m}^2$  と MBBO  $< 21\text{kg}/\text{m}^2$  の 2 群間で比較した。

## 4 . 研究成果

### 検討 1 : MBBO と膵細胞機能との関連

MBBO は年齢、性別、HbA1c、糖尿病期間で調整後、独立して C ペプチドインデックスと正に相関した。3 つのサブグループ(MBBO < 25kg/m<sup>2</sup> ; 25kg/m<sup>2</sup> ≤ MBBO < 30kg/m<sup>2</sup> ; MBBO ≥ 30kg/m<sup>2</sup>)に分けると、Cペプチドインデックスは各サブグループで糖尿病期間と負の相関があったが、C ペプチドインデックスの低下速度は 3 つの MBBO サブグループ間で差がなかった。一方、C ペプチドインデックスの低下速度は、入院時 BMI 25kg/m<sup>2</sup> 群の方が、入院時 BMI < 25kg/m<sup>2</sup> 群より大きかった (図 1)。結論として、MBBO は 細胞機能と関連し、診断時のインスリン分泌能を予測できる可能性がある。一方、MBBO にかかわらず、診断後の治療中に患者 BMI を低下させることは、細胞機能を維持するために重要であることが示唆された (引用文献 7)。

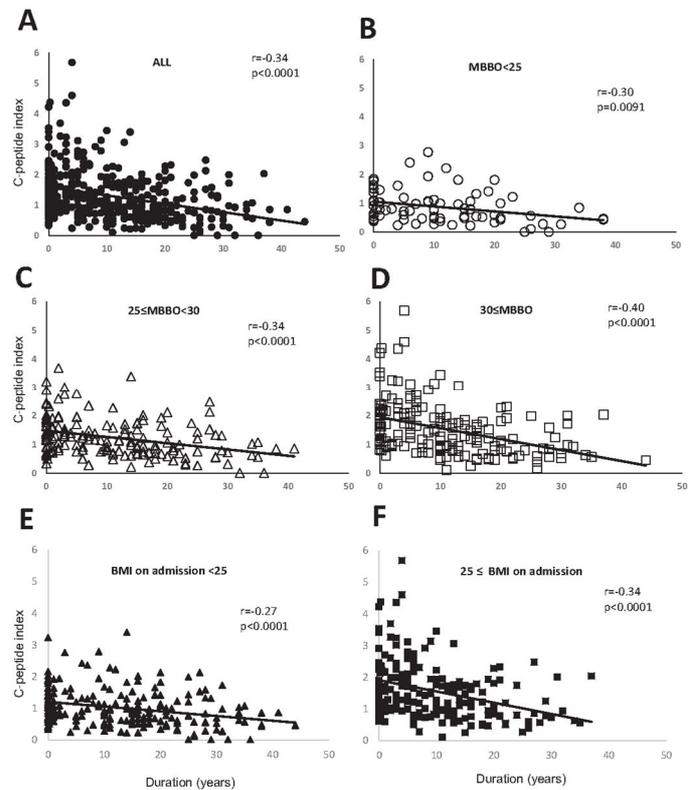


図 1.

全体 (A)、MBBO3 群 (B,C,D)、入院時 BMI2 群 (E,F) において罹病期間とともに C ペプチドインデックスの低下が認められる。MBBO3 群で低下速度に違いがないが、入院時 BMI 高値群では低値群よりも低下速度が大きい。

### 検討 2 : MBBO と糖尿病細小血管合併症との関連

単変量解析では、MBBO は進行した網膜症および腎症と関連し、入院時の BMI は進行した腎症とのみ関連することが示唆された。多変量解析では、MBBO は進行したこれら合併症と有意に関連したが、入院時の BMI は関連しなかった。さらに MBBO は糖尿病合併症に対する高い予測性能を示した。MBBO は 2 型糖尿病診断時に得られる情報であることから、診断時に将来の糖尿病合併症の進行を予測できる点で臨床的な有用性が高い。また MBBO が高い場合には、糖尿病性細小血管合併症が急速に進行する可能性があり、より慎重な経過観察を行うことで合併症の発症予防ならびに早期発見・悪化阻止へと繋がり、患者の生活の質の維持に寄与する可能性がある (引用文献 8)。

### 検討 3 : 細胞外インスリンの 細胞への影響

インスリンノーマ患者の非腫瘍部膵島では、GLUT2 および GLP1R の発現率が正常耐糖能患者よりも低かった。MIN6 細胞を高濃度のインスリンに曝露した結果、GLUT2 タンパク質ならびに、GLP1R タンパク質の減少が認められたが、これらの遺伝子発現には変化が見られなかった (図 2)。今回の結果から、高濃度インスリンが 細胞における GLUT2 および GLP1R 発現のダウンレギュレーションと関連していることが示された。検討 1 において入院時 BMI がインスリン分泌低下速度と関連したことは、BMI に依存するインスリン抵抗性を介した高インスリン血症が膵細胞機能に負の影響を及ぼしていることを示唆しており、検討 3 の結果はこのメカニズムに分子生物学的な知見を与えるものと考えられた (引用文献 9)。

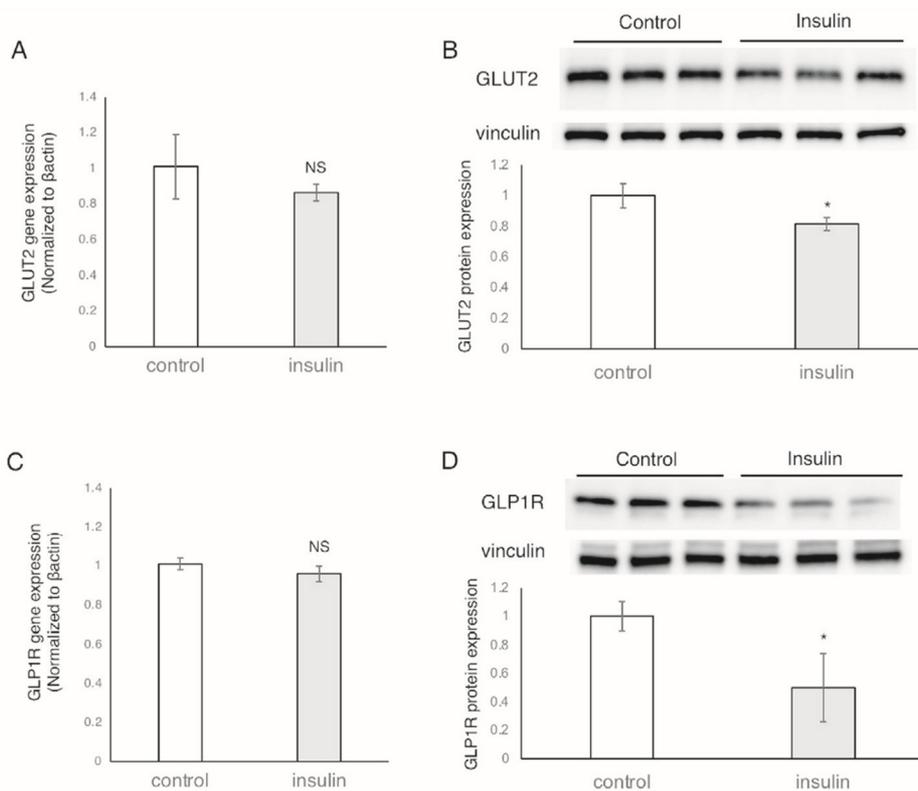


図 2.  
MIN 6 細胞へのインスリン添加により GLUT2 ならびに GLP1R の蛋白発現の低下 (B、D) がみられるが、遺伝子発現の変化は認められない (A、C)

#### 検討 4 : MBBO と膵島組織学的所見の関連

高 MBBO 群の膵 細胞面積率は、低 MBBO 群よりも高く (図 3)、細胞面積は両群間で差がなかった。これまで日本人において 2 型糖尿病患者における膵 細胞量について、体格の違いによる差というものは明らかではなかったが、MBBO に着目することで初めて 細胞量の違いを明らかにした。2 型糖尿病患者において、細胞からのグルカゴン分泌の異常が病態基盤の一つとなっているが、今回の成果から MBBO が グルカゴン分泌異常と密接に関連している可能性がある。今回の成果は MBBO を考慮してグルカゴン分泌異常の制御を行うという効率的な血糖管理法の開発に繋がる可能性がある (引用文献 10)。

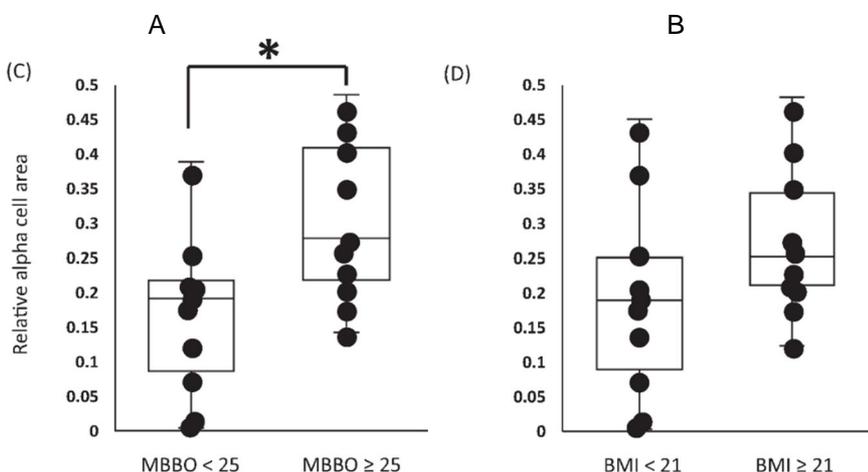


図 3.  
MBBO 高値群は低値群より 細胞面積率が大きい (A) 入院時 BMI 高値群、低値群では差が認められない (B)

## <引用文献>

1. Predominance of  $\beta$ -cell neogenesis rather than replication in humans with an impaired glucose tolerance and newly diagnosed diabetes.  
Yoneda S, Uno S, Iwahashi H, Fujita Y, Yoshikawa A, Kozawa J, Okita K, Takiuchi D, Eguchi H, Nagano H, Imagawa A, Shimomura I.  
*J Clin Endocrinol Metab.* 2013 May;98(5):2053-61. doi: 10.1210/jc.2012-3832.
2. Human pancreatic  $\beta$ - to  $\alpha$ -cell area ratio increases after type 2 diabetes onset.  
Fujita Y, Kozawa J, Iwahashi H, Yoneda S, Uno S, Eguchi H, Nagano H, Imagawa A, Shimomura I.  
*J Diabetes Investig.* 2018 Nov;9(6):1270-1282. doi: 10.1111/jdi.12841.
3. Increased NKX6.1 expression and decreased ARX expression in alpha cells accompany reduced beta-cell volume in human subjects.  
Fujita Y, Kozawa J, Fukui K, Iwahashi H, Eguchi H, Shimomura I.  
*Sci Rep.* 2021 Sep 7;11(1):17796. doi: 10.1038/s41598-021-97235-1.
4. Increment of serum C-peptide measured by glucagon test closely correlates with human relative beta-cell area.  
Fujita Y, Kozawa J, Iwahashi H, Yoneda S, Uno S, Yoshikawa A, Okita K, Eguchi H, Nagano H, Imagawa A, Shimomura I.  
*Endocr J.* 2015;62(4):329-37. doi: 10.1507/endocrj.EJ14-0456.
5. Islet inflammation is associated with pancreatic fatty infiltration and hyperglycemia in type 2 diabetes.  
Horii T, Fujita Y, Ishibashi C, Fukui K, Eguchi H, Kozawa J, Shimomura I.  
*BMJ Open Diabetes Res Care.* 2020 Aug;8(1):e001508. doi: 10.1136/bmjdr-2020-001508.
6. Glucose intolerance after pancreatectomy was associated with preoperative hemoglobin A1c, insulin resistance, and histological pancreatic fatty infiltration.  
Ishibashi C, Kozawa J, Fujita Y, Yoneda S, Uno S, Kimura T, Fukui K, Nojima S, Morii E, Eguchi H, Iwahashi H, Imagawa A, Shimomura I.  
*Pancreas.* 2018 Sep;47(8):e48-e50. doi: 10.1097/MPA.0000000000001109.
7. Clinical significance of the maximum body mass index before onset of type 2 diabetes for predicting beta-cell function.  
Ozawa H, Fukui K, Komukai S, Hosokawa Y, Fujita Y, Kimura T, Tokunaga A, Kozawa J, Iwahashi H, Shimomura I.  
*J Endocr Soc.* 2020 Mar 13;4(4):bvz023. doi: 10.1210/jendso/bvz023.
8. Maximum body mass index before onset of type 2 diabetes is independently associated with advanced diabetic complications.  
Ozawa H, Fukui K, Komukai S, Y Baden M, Fujita S, Fujita Y, Kimura T, Tokunaga A, Iwahashi H, Kozawa J, Shimomura I.  
**BMJ Open Diabetes Res Care.** 2021 Dec;9(2):e002466. doi: 10.1136/bmjdr-2021-002466.
9. Insulinoma induces a hyperinsulinemia-mediated decrease of GLUT2 and GLP1 receptor in normal pancreatic  $\beta$ -cells.  
Sho H, Fukui K, Yoneda S, Toyoda S, Ozawa H, Ishibashi C, Fujita Y, Eguchi H, Kozawa J, Shimomura I.  
**Biochem Biophys Res Commun.** 2021 Jan 1;534:702-706.doi:10.1016/j.bbrc.2020.11.014.
10. Expansion of human alpha-cell area is associated with a higher maximum body mass index before the onset of type 2 diabetes.  
Ozawa H, Fukui K, Fujita Y, Ishibashi C, Yoneda S, Nammo T, Fujita S, Baden MY, Kimura T, Tokunaga A, Kozawa J, Eguchi H, Shimomura I.  
*J Diabetes.* 2023 Mar;15(3):277-282. doi: 10.1111/1753-0407.13370.

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 4件）

1. 著者名 Ozawa H, Fukui K, Komukai S, Y Baden M, Fujita S, Fujita Y, Kimura T, Tokunaga A, Iwahashi H, Kozawa J, Shimomura I.	4. 巻 9
2. 論文標題 Maximum body mass index before onset of type 2 diabetes is independently associated with advanced diabetic complications.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMJ Open Diabetes Res Care	6. 最初と最後の頁 e002466
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/bmjdr-2021-002466	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 Sho H, Fukui K, Yoneda S, Toyoda S, Ozawa H, Ishibashi C, Fujita Y, Eguchi H, Kozawa J, Shimomura I.	4. 巻 534
2. 論文標題 Insulinoma induces a hyperinsulinemia-mediated decrease of GLUT2 and GLP1 receptor in normal pancreatic $\beta$ -cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 702-706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.11.014	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 Ozawa H, Fukui K, Komukai S, Hosokawa Y, Fujita Y, Kimura T, Tokunaga A, Kozawa J, Iwahashi H, Shimomura I	4. 巻 4
2. 論文標題 Clinical Significance of the Maximum Body Mass Index Before Onset of Type 2 Diabetes for Predicting Beta-Cell Function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of the Endocrine Society	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） 10.1210/jendso/bvz023	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 Ozawa H, Fukui K, Fujita Y, Ishibashi C, Yoneda S, Nammo T, Fujita S, Baden MY, Kimura T, Tokunaga A, Kozawa J, Eguchi H, Shimomura I	4. 巻 15
2. 論文標題 Expansion of human alpha-cell area is associated with a higher maximum body mass index before the onset of type 2 diabetes.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes	6. 最初と最後の頁 277-282
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1753-0407.13370	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 小澤 栄稔、福井 健司、仁木 暁子、川田 哲史、焦 裕之、堀井 知美、元田 沙織、石橋 千咲、馬殿 恵、藤田 真吾、藤田 有可里、木村 武量、徳永 あゆみ、南茂 隆生、小澤 純二、下村 伊一郎
2. 発表標題 2型糖尿病患者における膵グルカゴンと糖尿病発症前既往最高BMI (MBBO) を含めた臨床指標との関連
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 焦 裕之、福井健司、米田祥、石橋千咲、藤田有可里、木村武量、小澤純二、下村伊一郎
2. 発表標題 細胞外インスリンによる膵 細胞におけるGLP1R発現に関する検討
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 焦裕之、福井健司、米田祥、石橋千咲、藤田有可里、細川吉弥、木村武量、小澤純二、下村伊一郎
2. 発表標題 細胞外インスリンによる膵 細胞におけるGLUT2発現に関する検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小澤栄稔、福井健司、藤田有可里、米田祥、焦裕之、石橋千咲、藤田真吾、細川吉弥、木村武量、徳永あゆみ、江口英利、小澤純二、下村伊一郎
2. 発表標題 2型糖尿病患者の発症前・既往最高BMIと 細胞・細胞量の関連の検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福井健司
2. 発表標題 2型糖尿病患者の発症前既往最高体重と膵 細胞特性についての組織学的検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次各術集会
4. 発表年 2019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	木村 武量 (Kimura Takekazu)  (70770171)	大阪大学・医学系研究科・助教  (14401)	2022年3月28日削除
研究分担者	小澤 純二 (Kozawa Junji)  (80513001)	大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授  (14401)	

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