

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09036

研究課題名(和文) 2型糖尿病の膵島内神経血管構築異常の解析とその修復の試み

研究課題名(英文) Altered neurovascular network in type 2 diabetes and its repair

研究代表者

八木橋 操六 (Yagihashi, Soroku)

東邦大学・医学部・教授(寄付講座)

研究者番号：40111231

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(T2DM)の病態としてインスリン分泌低下は膵島細胞の脱落で表されるが、インスリン抵抗性がどのような膵島変化で示されるかは知られていない。本研究ではT2DMでインスリン抵抗性がどのような膵島病理変化をもたらすのか、膵島血管・神経構築の変化から検討を試みた。T2DM剖検例で得られた膵組織を用い、対照には非糖尿病症例を用いた。その結果、インスリン抵抗性の強いT2DMでは著明な膵島アミロイド沈着、血管数減少、血管狭窄や壁肥厚、周皮細胞の減少、さらには副交感神経線維の消失を認めた。この結果はインスリン抵抗性が膵島内血管・神経障害をもたらしてT2DMを惹起し、予後不良を導く過程が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

わが国は高齢化社会のなかで労働力、生産力の低下が著しく国力の衰えが目立つ。とくに最も活躍の期待される40代、50代の年齢層では食内容の欧米化、運動量の低下などから糖尿病をはじめとする生活習慣病の蔓延がみられる。これまで、肥満、糖尿病など、生活習慣病への有効な対策はとられておらず、個々の努力に委ねられてきた。その理由として、多数の因子が不明確な割合で関与し、明確な指針が欠落していたことなどが挙げられる。本研究では、膵島病変へのインスリン抵抗性の役割を明確に示し、個別の対策の重要性を提唱している。さらに大血管障害を合併する予後不良の2型糖尿病への進展阻止の道をも目指している。

研究成果の概要(英文)：Insulin deficiency is reflected by beta cell deficit in type 2 diabetes (T2DM), whereas it is not known how the insulin resistance attributes to the pathological alterations. In the present study, we attempted to characterize the pathological changes of islet neuro-vascular networks in patients with T2DM and compared with those in non-diabetic control subjects with special reference to the effects of marked insulin resistance. We found robust amyloid deposition, reduced number of microvessels, capillary obliteration and mural thickening with pericyte loss, and loss of parasympathetic nerve fibers in T2DM with insulin resistance reflected by the presence of macroangiopathy (infarction of brain and heart). These results indicate that insulin resistance elicits islet neuro-vasculopathy together with emergence of T2DM, resulting in bleak prognosis by the episode of cardiac or cerebral infarction.

研究分野：糖尿病学、病理学

キーワード：2型糖尿病 インスリン抵抗性 膵島血管 膵島神経 病理変化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国は高齢化社会のなかで労働力、生産力の低下が著しく国力の衰えが目立つ。とくに最も活躍の期待される 40 代、50 代の年齢層では食内容の欧米化、運動量の低下などから糖尿病をはじめとする生活習慣病の蔓延がみられる。これまで、肥満、糖尿病など、生活習慣病への有効な対策はとられていない。臨床的にも薬物療法を基本に生活習慣の改善については個々の努力に委ねられてきた。その理由として、糖尿病発症に関わる多数の因子が不明確な割合で関与し、明確な指針が欠落していたことが挙げられる。これまでの私どもの病理学的研究から 2 型糖尿病は一様な病態ではなく、脳梗塞や心筋梗塞など大血管障害を併発する予後不良な群(大血管障害合併予後不良群)あるいは腎障害、網膜症など特徴的な細小血管障害を長期的に合併し長期ケアの必須な群(細小血管障害合併要長期加療群、逆に高血糖の持続にも拘わらず合併症の起こらない予後良好な群(合併症フリー予後良好群)など、多様なパターンに分けられることが明らかになっている。上記のように 2 型糖尿病をいくつかの病型に分類し、それに対応した個別治療を効率的に実施することは増大する糖尿病人口の抑制とともに、医療経済の効率的制御のために不可欠の課題である。なお、膵島の病理変化に直接関連する可能性として膵島血管および膵島神経支配の変化すなわち膵島微小環境の変化があるがこれに関する情報は極めて少ない。本研究では 2 型糖尿病の膵島病理変化の多様性、それと関連する膵島微小環境変化について検討を加える。

2. 研究の目的

これまでの研究により 2 型糖尿病がいくつかの病型に分けられる可能性を探索してきたが、その中でインスリン抵抗性を示す例は脳梗塞、心筋梗塞などの大血管合併症を併発しやすく、予後が悪いことが示されている。しかしながらインスリン抵抗性がなぜ予後不良となるのか、また予後不良の 2 型糖尿病での膵島病理はどのような特徴を有するのか、その病理変化がどのような臨床的特徴を示すのかを探究する。すなわち、予後不良な例の膵島病理の特徴を明確にし、その病態の進展を防ぐ糸口を探求する。その目的のため、ヒト 2 型糖尿病に大血管合併症を併発し死亡した予後不良糖尿病例の膵島病理変化を明確にする。比較検討の目的から、2 型糖尿病の長期罹病にも拘らず、合併症なくインスリン分泌細胞の量、構成も保たれている症例を集め、予後不良例と比較検討する。また、動物実験では自然発症 2 型糖尿病モデルの GK ラットを用いてインスリン抵抗性の程度と膵島内血管および神経分布の変化を探索し、その特徴を明確にするよう試みる。さらに高血圧の膵島への影響をみる目的から、高血圧自然発症ラットにストロプトゾチン注射を行い膵島での血管、神経変化について検討を加える。

3. 研究の方法

ヒト 2 型糖尿病患者の剖検例から得られた膵病理標本 35 例および対照として年齢、性をマッチさせた非糖尿病患者剖検膵 20 例を用いた(弘前大学医学部倫理委員会承認)。2 型糖尿病症例のなかで心筋梗塞の併発により死亡した 15 例を蒐集し、大血管障害合併予後不良群(DM+MA)とした。一方、死亡原因が悪性腫瘍、あるいは呼吸器感染症などで死亡した大血管障害の目立たない糖尿病大血管障害フリー群(DM)、さらには糖尿病がなく大血管障害で死亡した大血管障害フリー糖尿病群(NonDM+MA)、非糖尿病対照群(NonDM)18 例として比較検討した。検討項目では、膵重量、膵島構成細胞分布、膵島内血管分布、膵島内神経分布について、免疫染色を施行し比較検討した。免疫染色は、インスリン、グルカゴン、ソマトスタチン、膵ペプチドそれぞれに対する特異的抗体を用い、4 重染色を施行して組織定量的に検討した。一方、アミロイド沈着についてはチオフラビン蛍光染色にて検討した。GK ラット、高血圧自然発症(SHR)ラットを用いた動物実験では生後 8 週齢で糖尿病ラットを購入し、4~8 週経過観察したのち、インスリン抵抗性状態、血糖、血圧を測定したのち、イソフルラン麻酔下で脱血、膵を摘出しホルマリン固定し、その後免疫染色を施行して、対照正常 Wistar ラット、WKY ラットで比較検討を行った。組織病理学的変化は組織定量的評価を加え 0(変化なし)1(軽度変化あり)2 中等度変化あり、3 高度変化あり、の 4 段階にスコア化し、各症例ごとにその平均値で代表させ、群としてはさらに各症例を集めた群での平均値を求め、各群間の差については ANOVA にて差を求め、Bonferroni 補正を行って評価した。

4. 研究成果

ヒト 2 型糖尿病膵の病理評価について：これまでの著者らの病理学的研究により、日本人では非肥満のやせ型糖尿病が多く、BMI も平均値で 22~23 である。米国、欧州での 2 型糖尿病患者の平均 BMI は 32~34 であり基本的に異なった病態をうかがわせる。日本人の 2 型糖尿病患者の死因統計では死因として悪性腫瘍が第一位を占めているが、欧米では圧倒的に心筋梗塞、大血管障害が首位を占めている。この臨床情報から欧米での糖尿病病理の臨床情報が我が国の状態と異なっており、欧米人のデータをわが国の糖尿病症例での変化として応用する際には、背景にある基本的データが異なっていることを認識する必要がある。

ヒト2型糖尿病の膵島変化について： これまでの病理学的研究から、我が国の2型糖尿病患者の膵は非糖尿病に比し、膵島数の減少、膵島内細胞占有率の減少、さらには膵全体に占める細胞容積の減少といえる。同時に細胞の増加もみられる。、PP細胞については非糖尿病群との差はみられない。とくに膵島内アミロイド沈着は2型糖尿病の特徴的所見である。しかし、わが国の2型糖尿病患者でのアミロイド沈着率の程度が低く、2型糖尿病症例の50~60%程度で検出できるが、欧米の2型糖尿病では85~100%に近い頻度でみることができる。またアミロイド沈着の膵島沈着率(膵島内でのアミロイド占有面積)も欧米人では高く、膵島から腺房組織へと拡大し、膵島をアミロイドで置換してしまう程度にみることも少なくない。これに比し、わが国での膵島内アミロイド沈着率は10~15%程度にとどまっている。平均でみると欧米でのアミロイド膵島占有率は55~70%となっている。大血管障害(心筋梗塞)合併死亡糖尿病症例では、膵島細胞の著しい減少とともにアミロイド沈着率はさらに目立ち、膵島内での35-40%領域を占有する場合が多く、膵島病理変化も高度にみられ、膵島内血管数の減少、血管壁肥厚、周皮細胞減少の膵島変化も高度であった。このことから、アミロイド沈着、膵島内血管変化も高度であり、インスリン抵抗性が膵島での微小環境を破壊し、糖尿病状態を進展させている可能性が示された。膵島変化のみならず、腺房組織、外分泌導管上皮においても、腺房組織の萎縮、および導管上皮の異形成変化も高頻度に観察された。

膵島微小環境変化について： 血管内皮、周皮細胞マーカー、副交感神経マーカーとしてのアセチルコリン、交感神経マーカーとしてチロジンヒドロキシラーゼをマーカーとして検索すると、大血管障害合併2型糖尿病患者での血管壁肥厚、周皮細胞脱失、血管減少が目立ち、膵島内血流減少、膵島血管障害がインスリン抵抗性大血管合併発糖尿病者の特徴として観察された。一方、アセチルコリン陽性の副交感神経は膵島内分布を示さず、腺房組織周辺までの分布をみるが、大血管障害合併糖尿病症例では神経線維消失、変性がみられ、膵島微小環境が血行障害、神経制御不全状態を示すことが確認された。さらにアミロイド沈着は血管壁に沿って多く、一方では細胞内あるいはその近隣に沈着し、血流障害を惹起するとともに細胞でのオートファジー異常が細胞の脱落に関与する可能性が考えられた。これまでインスリン抵抗性、大血管障害合併2型糖尿病の膵島病理の特徴を予後不良型とまとめ得る膵島病理を明らかにできたが、欧米人と日本人の膵島病理の病型の違い、また肥満型2型糖尿病と非肥満型糖尿病との差、脂質異常を主とした場合の膵島所見、慢性呼吸不全状態での膵島変化など、いまだ解決すべき問題も多い。さらに、動物実験でヒト2型糖尿病膵島変化に関連する機構を解明するべく探査中であるが、十分な結果はいまだ得られておらず今後も継続して探索を続ける過程にある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Yagihashi Soroku	4. 巻 May
2. 論文標題 Gut as a source of new cells and Segi's cap	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.14025	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 -
1. 著者名 Fukui Tomoyasu, Kobayashi Tetsuro, Jimbo Erika, Aida Kaoru, Shimada Akira, Oikawa Yoichi, Mori Yasumichi, Fujii Takeshi, Koyama Rikako, Kobayashi Kazuhiko, Takeshita Akira, Yagihashi Soroku	4. 巻 13
2. 論文標題 Bi-glandular and persistent enterovirus infection and distinct changes of the pancreas in slowly progressive type 1 diabetes mellitus	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6977-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-33011-7	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 -
1. 著者名 Osonoi Sho, Mizukami Hiroki, Takeuchi Yuki, Sugawa Hikari, Ogasawara Saori, Takaku Shizuka, Sasaki Takanori, Kudoh Kazuhiro, Ito Koichi, Sango Kazunori, Nagai Ryoji, Yamamoto Yasuhiko, Daimon Makoto, Yamamoto Hiroshi, Yagihashi Soroku	4. 巻 7
2. 論文標題 RAGE activation in macrophages and development of experimental diabetic polyneuropathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 e160555-
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1172/jci.insight.160555	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 -
1. 著者名 Takeuchi Yuki, Mizukami Hiroki, Kudoh Kazuhiro, Osonoi Sho, Sasaki Takanori, Kushibiki Hanae, Ogasawara Saori, Hara Yutaro, Igawa Akiko, Pan Xuekai, Yamada Takahiro, Yamazaki Keisuke, Mikami Tatsuya, Daimon Makoto, Yagihashi Soroku, Hakamada Kenichi, Nakaji Shigeyuki	4. 巻 173
2. 論文標題 The diversity and abundance of gut microbiota are associated with the pain sensation threshold in the Japanese population	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurobiology of Disease	6. 最初と最後の頁 105839 ~ 105839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2022.105839	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 -

1. 著者名 Takahashi K, Mizukami H, Sho Osonoi, Takeuchi Y, Kudoh K, Sasaki T, Daimon M, Yagihashi S	4. 巻 12
2. 論文標題 Islet microangiopathy and augmented be-ta cell loss in Japanese non-obese type 2 diabetes patients who died of acute myocardial infarction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 2149-2161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13601	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 Uchida C, Mizukami H, Hara Y, Saito T, Umetsu S, Igawa A, Osonoi S, Kudoh K, Yamamoto H, Yagihashi S, Hakamada K	4. 巻 22
2. 論文標題 Diabetes in humans activates pancreatic stellate cells via RAGE in pancreatic ductal adenocarcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 11716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222111716	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 Jimbo E, Kobayashi T, Takeshita A, Mine K, Nagafuchi S, Fukui T, Yagihashi S,	4. 巻 13
2. 論文標題 Immunohistochemical detection of enteroviruses in pancreatic tissues of patients with type 1 diabetes using a polyclonal antibody against 2A protease of Coxsackievirus. J Diabetes Invest	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Diabetes Invest	6. 最初と最後の頁 435-442
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13700	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 Takahashi K, Mizukami H, Osonoi S, Ogasawara S, Hara Y, Kudoh K, Takeuchi Y, Sasaki T, Daimon M, Yagihashi S	4. 巻 155
2. 論文標題 Inhibitory effects of xanthine oxidase inhibitor, topiroxostat, on development of neuropathy in db/db mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurobiol Dis	6. 最初と最後の頁 105392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nbd.2021	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 Umetsu S, Mizukami H, Saito T, Uchida C, Igawa A, Kudo K, Itabashi C, Osonoi S, Danyang G, Sasaki T, Yagihashi S, Hakamada K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Diabetes, an independent poor prognostic factor of non-B non-C hepatocellular carcinoma, correlates with dihydropyrimidinase-like 3 promotor methylation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 1156-1161
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-57883-1	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 Guo D, Mizukami H, Osonoi S, Takahashi K, Ogasawara S, Kudo K, Sasaki T, Yagihashi S	4. 巻 107
2. 論文標題 Beneficial effects of combination therapy of canagliflozin and teneligliptin on diabetic polyneuropathy and beta-cell volume density in spontaneously type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metabolism	6. 最初と最後の頁 154232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.metabol.2020.154232	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 Yagihashi S	4. 巻 11
2. 論文標題 What can we learn from the islet of Joslin Medalists?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Invest	6. 最初と最後の頁 1117-1119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13283	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 Mizukami H, Osonoi S, Takaku S, Yamagishi SI, Ogasawara S, Sango K, Chung S, Yagihashi S	4. 巻 2
2. 論文標題 Role of glucosamine in development of diabetic neuropathy independent of the aldose reductase pathway.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain Commun	6. 最初と最後の頁 fcaa168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/braincomms.fcaa168	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 Takita M, Jimbo E, Fukui T, Alda K, Shimada A, Oikawa Y, Yagihashi S, Miura J, Babazono T, Kobayashi T	4. 巻 104
2. 論文標題 Unique inflammatory changes in exocrine and endocrine pancreas in enterovirus-induced fulminant Type 1 diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Clin Endocrinol Metab	6. 最初と最後の頁 4282-4294
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jc2018-02672	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 -

1. 著者名 Sugimoto K, Murakami H, Deguchi T, Arimura A, Daimon M, Suzuki S, Shimbo T, Yagihashi S	4. 巻 10
2. 論文標題 Cutaneous microangiopathy in patients with type 2 diabetes: impaired vascular endothelial growth factor expression and its correlation with neuropathy, retinopathy and nephropathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Diabetes Invest	6. 最初と最後の頁 1318-1331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13020	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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Mizukami H, Umetsu S, Uchida C, Igawa A, Kudoh K, Osonoi S, Sasaki T, Yagihashi S
2. 発表標題 Type 2 diabetes is a prognostic factor of non-B nonC hepatocellular carcinoma with increasing DPYSL3 promoter hypermethylation
3. 学会等名 80th American Diabetes Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Osonoi S, Sasaki T, Kudo K, Yagihashi S, Mizukami H
2. 発表標題 Implication of cyclin D2 in beta cell proliferation of human perinatal islet
3. 学会等名 80th American Diabetes Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年 ~ 2022年

1. 発表者名 Ichinohe H, Mizukami H, Osonoi S, Takahashi K, Ogasawara S, Yagihashi S
2. 発表標題 Activated xanthine oxidase in serum is a potent therapeutic target for experimental diabetic polyneuropathy
3. 学会等名 80th American Diabetes Association meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 一戸寛、遅野井祥、郭丹陽、工藤和洋、水上浩哉、八木橋操六
2. 発表標題 胎生期から学童期の膵島内分泌細胞は各細胞独自の容積、増殖能を示す
3. 学会等名 第108回日本病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上浩哉、高橋和久、遅野井祥、郭丹陽、工藤和洋、板橋智映子、八木橋操六
2. 発表標題 急性心筋梗塞合併2型糖尿病は膵島病理学的所見により亜分類される
3. 学会等名 第108回日本病理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上浩哉、高橋和久、遅野井祥、工藤和洋、板橋智映子、八木橋操六
2. 発表標題 新しい2型糖尿病亜分類の膵島病理学的所見に基づく検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Yagihashi S (ed by Tavakoli M)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 380
3. 書名 Diabetic Neuropathy (Pathologic basis for diabetic neuropathy in humans)	

1. 著者名 Yagihashi S (ed by Tavakoli M)	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 380
3. 書名 Diabetic Neuropathy (Pathologic basis for diabetic neuropathy in humans)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

なし

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	水上 浩哉 (Mizukami Hiroki) (00374819)	弘前大学・医学研究科・教授 (11101)	

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