

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08915

研究課題名（和文）成熟膵 細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻が糖代謝に与える影響の解析

研究課題名（英文）Analyses of effects of beta-cell disallowed genes on glucose metabolism

研究代表者

西村 渉（Nishimura, Wataru）

国際医療福祉大学・医学部・教授

研究者番号：00334433

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）：インスリンを分泌する膵 細胞の障害は、糖尿病の原因となる。我々はこれまでに、糖尿病モデルマウスでは膵 細胞の脱分化が認められることを、細胞系譜追跡実験などにより明らかにした。脱分化膵 細胞では、成熟膵 細胞で発現が抑制されている分子の発現増強が認められる。そこで本研究では、網羅的遺伝子発現解析の結果から、成熟膵 細胞で特異的に発現抑制され、細胞障害時に発現が増強する遺伝子群を同定し、それらの機能を解析した。その結果、膵 細胞障害においてそれら遺伝子が発現増強する分子メカニズムを解明するとともに、それら遺伝子産物が、膵 細胞と膵島周囲の微小環境との相互作用に影響を与える可能性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの生物学の研究では主に、成熟した細胞に発現して、生理的に重要な機能を持つ遺伝子と、それらの病態における発現変動が、解析対象とされてきた。これに対して、近年の遺伝子発現解析技術の発達は、特定の細胞特異的に発現が抑制される遺伝子を解析対象とすることを可能にした。細胞機能と遺伝子発現との関連を解析する上で、膵 細胞は機能のアッセイ系やマーカー分子が確立しており、対象として扱いやすい。本研究課題では、成熟膵 細胞特異的に発現が抑制されている遺伝子群の機能を解析し、発現抑制の破綻と膵 細胞障害との関連について分子レベルで一定の知見を得ており、学術的に意義ある研究成果といえる。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic  $\beta$ -cells regulate glucose metabolism by secreting insulin. Dysfunction of  $\beta$ -cells results in diabetes. We have previously demonstrated dedifferentiation of  $\beta$ -cells in diabetes model mice by lineage tracing studies. In dedifferentiated  $\beta$ -cells, expression of particular genes, which is inhibited in mature  $\beta$ -cells, is upregulated. In this study, we identified a group of genes whose expression is specifically inhibited in mature  $\beta$ -cells by comprehensive gene expression analyses. Results of functional analysis of these genes revealed that upregulation in expression of these genes in impaired  $\beta$ -cells under diabetes is induced by several transcription factors, whose expression is also upregulated in impaired  $\beta$ -cells. We also elucidated that these genes can influence the interaction between  $\beta$ -cells and the microenvironment around pancreatic islets. These results suggested that factors identified in this study can be molecular targets for improvement of  $\beta$ -cell function.

研究分野：分子生物学

キーワード：発生・分化 遺伝子 糖尿病 発現制御 膵 細胞 インスリン 脱分化 成熟分化

## 1. 研究開始当初の背景

全世界の糖尿病罹患者は2021年で5億3700万人と推計され、今後も増え続けると推測されている<sup>(1)</sup>。膵β細胞は、インスリンの分泌により糖代謝を制御している。2型糖尿病では、主に末梢のインスリン抵抗性の増大により、膵β細胞の機能ならびに量が低下し、インスリン分泌が障害され、糖代謝異常が発生する。しかし、どのようなメカニズムで膵β細胞の機能や量の障害が発生するのかは、十分に明らかではない。

我々はこれまでに、膵β細胞の発生・分化・機能における転写因子の機能を、個体レベルで解析してきた。その結果、糖尿病モデルマウスにおいて、転写因子MafAの発現低下に伴う膵β細胞の脱分化が、β細胞機能障害と耐糖能異常の原因となり得る事を、細胞系譜追跡実験などにより明らかにした<sup>(2)</sup>。

脱分化膵β細胞では、通常の膵β細胞で発現が抑制されている分子の発現増強が認められる。そこで我々は、マウス新生仔期成熟過程の4週齢と8週齢の膵島、MafA陽性の成熟膵β細胞とそれ以外の膵島細胞、さらには糖尿病モデルとその対照マウスの膵島について、遺伝子発現をそれぞれ網羅的に解析し、4週齢膵島やMafA陰性の膵島細胞に比べ、8週齢の成熟膵島とMafA陽性の成熟β細胞でともに発現が抑制される遺伝子群を同定した。さらにそれら成熟膵β細胞で発現抑制されている遺伝子群のほとんどが、糖尿病モデルマウスの膵島で発現増強しており、それらが、糖尿病における膵β細胞の脱分化や機能障害に関与する可能性を見出した(基盤C17K09843)。これら成熟膵β細胞で特異的に発現抑制される遺伝子群の機能については、これまでもいくつか報告は散見されているが、大部分が不明である<sup>(3,4)</sup>。

## 2. 研究の目的

本研究では、成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制メカニズムとその生理的、あるいは病理的意義を解明し、さらに成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻と糖尿病における膵β細胞障害との関連を明らかにして、糖尿病の先制医療の基盤を開発することを目的とする。これまでの生物学の研究では主に、機能的に成熟した細胞に発現する遺伝子の機能が主に解析されてきた。これに対して本研究課題では、成熟細胞特異的に発現が抑制されている遺伝子について、それらが生理的にどの程度細胞機能に重要であり、どのようにして発現抑制の破綻が発生し、それがどの程度病態メカニズムに関与するのかについて明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) 成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻の分子メカニズムの解明

我々は以前、障害モデルの膵β細胞株における転写因子MafBの発現抑制の破綻に、プロモーターの脱メチル化が伴うことを明らかにしている<sup>(5)</sup>。そこで、4週齢と8週齢の膵島の網羅的遺伝子発現解析と網羅的DNAメチル化解析の結果を分析することにより、個々の遺伝子発現抑制に対するDNAメチル化の影響を解析した。また、成熟膵β細胞特異的な発現抑制や、膵β細胞障害時の発現増強を制御する転写因子を探索した。

### (2) 成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻による、膵β細胞機能障害メカニズムの解明

膵島における、成熟β細胞で発現抑制されている遺伝子群の過剰発現が、膵島の遺伝子発現や機能に与える影響について解析した。また、成熟膵β細胞特異的に発現抑制される遺伝子について、膵β細胞特異的ノックアウトマウスを作製し、これらの遺伝子発現が個体レベルで糖代謝に

与える影響について解明し、膵β細胞障害の新規メカニズムを明らかにする。

#### 4. 研究成果

##### (1) 成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻の分子メカニズムの解明

基盤C 17K09843で同定された、成熟膵β細胞で有意に発現抑制され、糖尿病膵島で有意に発現増強する遺伝子群のgene ontology解析の結果、膵島周囲の微小環境に関連する遺伝子が多数含まれていることが明らかになった。既報のRNA-seqデータの2次解析では、ヒトの糖尿病膵島におけるそれら遺伝子群の多くは、正常膵島に比べ発現増強していた。そこでそれら遺伝子群について、それぞれの遺伝子発現領域のDNAメチル化をMeDIP-Seqで解析した。その結果、4週齢と比べて8週齢の膵島で、発現制御領域にメチル化が認められる遺伝子が15.8%、脱メチル化が認められる遺伝子が28.4%、メチル化と脱メチル化の両方が認められる遺伝子が28.4%、有意にメチル化の変化が認められない遺伝子が27.4%であった。それら遺伝子群は全て、4週齢から8週齢にかけて発現が抑制されているが、発現制御領域のDNAメチル化については一定の傾向を認めなかった。

次に、これらの遺伝子発現を制御する転写因子をin silicoで探索したところ、6つの候補分子が同定された。それらの転写因子は対照に比べて、糖尿病モデルマウスの膵島で発現が増強していた。そこでレンチウイルスにより、マウス分離膵島でそれら転写因子を過剰発現したところ、膵島周囲の微小環境に関連するいくつかの標的遺伝子の発現増強が認められた。そこで、それら標的遺伝子のプロモーターの下流にルシフェラーゼ遺伝子をクローニングしたベクターを作製し、レポーターアッセイを施行したところ、それら転写因子は標的遺伝子のプロモーターを活性化した。以上より、本研究で同定された転写因子群が、成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻に重要である可能性が示唆された。

##### (2) 成熟膵β細胞特異的な遺伝子発現抑制の破綻による、膵β細胞機能障害メカニズムの解明

マウス分離膵島における、同定された6つの転写因子群のうちの特定の組み合わせの過剰発現や、標的遺伝子産物そのものが膵β細胞に与える影響について、マウス分離膵島を用いて解析するため、in vitroで実験系を構築し、メカニズムの詳細を分子レベルで解析した。その結果、それら遺伝子群は膵β細胞と膵島周囲の微小環境との相互作用に影響を与え、それが膵β細胞機能に重要な遺伝子の発現を変動させることを明らかにした。これら解析の結果、糖尿病状態の膵β細胞においては、これら遺伝子の病態特異的な発現増強が誘因となって、膵β細胞障害が引き起こされる分子メカニズムが、明らかになりつつある。現在は、それら標的遺伝子の膵島に対する作用について、引き続きin vitroで解析するとともに、関連する分子の発現を膵β細胞特異的に、任意の時期に変動させる遺伝子改変マウスを作製し、その影響について個体レベルで解析中である。

#### <引用文献>

(1) IDF Diabetes Atlas, 2021. [https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF\\_Atlas\\_10th\\_Edition\\_2021.pdf](https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf)

(2) Nishimura W, Takahashi S, Yasuda K. MafA is critical for maintenance of the mature beta cell phenotype in mice. *Diabetologia*. 58: 566-574, 2015.

(3) Schuit F, Van Lommel L, Granvik M, Goyvaerts L, de Faudeur G, Schraenen A, Lemaire K. β-cell-specific gene repression: a mechanism to protect against inappropriate or maladjusted insulin secretion?

Diabetes. 61: 969-975, 2012.

(4) Pullen TJ, Rutter GA. When less is more: the forbidden fruits of gene repression in the adult  $\beta$ -cell.

Diabetes Obes Metab. 15: 503-512, 2013.

(5) Nishimura W, Ishibashi N, Eto K, Funahashi N, Udagawa H, Miki H, Oe S, Noda Y, Yasuda K.

Demethylation of the MafB promoter in a compromised  $\beta$ -cell model. J Mol Endocrinol. 55: 31-40, 2015.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Udagawa H, Funahashi N, Nishimura W, Uebanso T, Kawaguchi M, Asahi R, Nakajima S, Nammo T, Hiramoto M, Yasuda K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Glucocorticoid receptor-NECAB1 axis can negatively regulate insulin secretion in pancreatic cells.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 17958
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-023-44324-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 -
1. 著者名 Oka A, Kanai K, Higaki T, Makihara S, Noda Y, Kariya S, Ando M, Nishimura W, Okano M	4. 巻 2
2. 論文標題 Macroarray expression analysis of cytokines and prostaglandin metabolism-related genes in chronic rhinosinusitis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol Glob	6. 最初と最後の頁 100123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jacig.2023.100123	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 Nishimura W, Iwasa H, Tumurkhuu M.	4. 巻 23(9)
2. 論文標題 Role of the Transcription Factor MAFA in the Maintenance of Pancreatic -Cells.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 4478
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23094478	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 Nishimura W, Takayanagi Y, Tumurkhuu M, Zhou R, Miki H, Noda Y.	4. 巻 234
2. 論文標題 Effect of long-term confinement on metabolic and physiological parameters in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiology & Behavior	6. 最初と最後の頁 113386
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.physbeh.2021.113386	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 Tumurkhuu M, Batbuyan U, Yuzawa S, Munkhsaikhan Y, Batmunkh G, Nishimura W.	4. 巻 10
2. 論文標題 A novel BICD2 mutation of a patient with Spinal Muscular Atrophy Lower Extremity Predominant 2.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Intractable Rare Dis Res	6. 最初と最後の頁 102-108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5582/irdr.2021.01004	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 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 143791
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 Udagawa H, Hiramoto M, Kawaguchi M, Uebanso T, Ohara-Imaizumi M, Nammo T, Nishimura W, Yasuda K.	4. 巻 11
2. 論文標題 Characterization of taste receptor-related G-protein -gustducin in pancreatic -cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig	6. 最初と最後の頁 814-822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13214.	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 Nishimura W, Tumurkhuu M, Noda Y, Yasuda K.	4. 巻 69
2. 論文標題 Gene Repression during Maturation of Pancreatic -Cells Mirrors Those Upregulated in Islets of Diabetic db/db Mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 Supple1: 2059-P
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db20-2059-P	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 西村 渉.	4. 巻 52
2. 論文標題 臍 細胞の脱分化に関与しうる因子.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞.	6. 最初と最後の頁 400-403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 西村 渉.	4. 巻 30
2. 論文標題 仕事人の楽屋裏.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 緩和ケア.	6. 最初と最後の頁 434-435
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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21件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 西村 渉, 岩佐宏晃.
2. 発表標題 臍 細胞の成熟分化ならびに恒常性維持に重要な転写因子群の同定.
3. 学会等名 第23回日本再生医療学会総会.
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 西村 渉, 岩佐宏晃, 藤森 日彩, 津久井 南帆, 津田 潤.
2. 発表標題 転写因子Mafa・Pdx1プロモーター活性の可視化による臍 細胞の機能解析.
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西村 渉, 岩佐宏晃, Munkhtuya Tumurkhuu, 野田泰子, 安田和基.
2. 発表標題 脾 細胞成熟分化におけるDNAメチル化の役割の解析.
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 椎木幾久子, 田部勝也, 井泉知仁, 吉村充弘, 西村 渉, 今井淳太, 奥屋 茂, 上田 陽一, 片桐秀樹, 谷澤幸生.
2. 発表標題 血糖制御と臓器間コミュニケーション 神経ネットワークを介した脾 細胞量の調節.
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 2023年

1. 発表者名 岩佐宏晃, 渡部栄地, 西村 渉.
2. 発表標題 腫瘍抑制遺伝子Rassf6のノックアウトは脾島におけるリボソーム生合成を低下させる.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩佐宏晃, 渡部栄地, 西村 渉.
2. 発表標題 高AGE食によってもたらされる老化と遺伝子発現の変動.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会.
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 Sugaya M, Kusano H, Shiomi T, Nishimura W, Blauvelt A.
2. 発表標題 Lymphatic dysfunction affects both collagen degradation and collagen synthesis, leading to a paradoxical reduction in dermal fibrosis.
3. 学会等名 International Societies for Investigative Dermatology 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西村 涉, 岩佐宏晃.
2. 発表標題 一細胞RNA-seq解析による成熟腭 細胞の恒常性維持メカニズムの解明.
3. 学会等名 第13回国際医療福祉大学学会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩佐 宏晃, 西村 涉.
2. 発表標題 RASSF6による糖尿病発症におけるシグナル伝達の解明.
3. 学会等名 第13回国際医療福祉大学学会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菅谷 誠, 草野 広行, 潮見 隆之, 西村 涉.
2. 発表標題 リンパ浮腫が皮膚硬化に与える影響.
3. 学会等名 第13回国際医療福祉大学学会.
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宇田川陽秀, 柳田圭介, 舟橋伸昭, 添田光太郎, 南茂隆生, 平本正樹, 西村 渉, 進藤英雄, 今泉美佳, 植木浩二郎, 安田和基.
2. 発表標題 内臓脂肪組織由来培養細胞の中皮細胞関連マーカー発現におけるGata5の機能.
3. 学会等名 第43回日本肥満学会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩佐宏晃, 前田健吾, 堀岡希衣, 三宅克也, 松本征仁, 安田和基, 西村 渉.
2. 発表標題 膵島内における成熟膵 細胞のサブタイプとその局在の解析.
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 西村 渉, 岩佐宏晃.
2. 発表標題 膵 細胞の恒常性維持に重要な転写因子の機能解析.
3. 学会等名 第12回国際医療福祉大学学会学術大会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村 渉, 岩澤果穂, 長谷川玲子, 岩佐宏晃.
2. 発表標題 遺伝子改変マウスのgenotypingにおけるHotSHOT法の有用性の検討.
3. 学会等名 第12回国際医療福祉大学学会学術大会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西村 渉、Munkhtuya Tumurkhuu.
2. 発表標題 膵 細胞成熟化を制御する転写因子の探索.
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村 渉、Munkhtuya Tumurkhuu、嘉藤真士、堀岡希衣、矢島大介.
2. 発表標題 膵 細胞障害を誘導する分子の機能解析.
3. 学会等名 第11回国際医療福祉大学学会学術大会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宇田川陽秀、舟橋伸昭、中野堅太、柳田圭介、岡村匡史、添田光太郎、南茂隆生、平本正樹、西村 渉、進藤英雄、今泉美佳、植木浩二郎、安田和基.
2. 発表標題 内臓脂肪組織の脂肪細胞と中皮細胞における転写因子Gata5の機能解析.
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村 渉、ムンフトヤ・トゥムルフー.
2. 発表標題 成熟膵 細胞で高発現している遺伝子の解析.
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会.
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村 渉、ムンフトヤ・トゥムルファー、安田和基、野田泰子。
2. 発表標題 成熟脾 細胞で特異的に発現している遺伝子群の解析。
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 西村 渉、ムンフトヤ・トゥムルファー。
2. 発表標題 脾 細胞障害を誘導する分子の同定。
3. 学会等名 第9回国際医療福祉大学学会。
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宇田川陽秀，舟橋伸昭，南茂隆生，平本正樹，西村 渉，植木浩二郎，安田和基。
2. 発表標題 Gata5はグルタチオン-S-トランスフェラーゼの発現を増強させ内臓脂肪の酸化ストレスを調節する。
3. 学会等名 第34回日本糖尿病・肥満動物学会。
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

国際医療福祉大学医学部 分子生物学ホームページ <a href="https://www.iuhw.org">https://www.iuhw.org</a> Researchmap マイポータル(西村渉) <a href="https://researchmap.jp/nishimuraw">https://researchmap.jp/nishimuraw</a> ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-8068-1277">https://orcid.org/0000-0002-8068-1277</a>
--

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			
モンゴル	モンゴル国立医科学大学			