

令和 6 年 5 月 9 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08535

研究課題名（和文）ヒト膵 細胞量の調節因子の解明による新たな糖尿病治療ストラテジーの確立

研究課題名（英文）Development of novel strategy for treatment of diabetes based on exploring of human beta cell regulators

研究代表者

税所 芳史（YOSHIFUMI, SAISHO）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師（非常勤）

研究者番号：90327510

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究助成により、我々は膵手術を行った患者の摘出膵検体を用いて、糖尿病治療薬であるDPP-4阻害薬の使用が膵細胞量に与える影響を報告し、また剖検膵標本を用いて膵癌患者における細胞量、細胞量の変化について検討し、報告した。そしてこれまでの知見をもとにアメリカ内分泌学会英文誌に膵細胞の量を規定する生理的・病的因子についての総説を发表し（J Endocr Soc 5(10):bvab128, 2021）、膵細胞保護の観点からの新たな糖尿病治療戦略の重要性を「beta cell centric concept」として提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵細胞量の減少は1型、2型糖尿病に共通の病態であることを我々はこれまで日本人の膵組織学的検討により報告してきた。細胞量に影響する因子についても検討を行い、膵癌患者ではα細胞比が大きくなることから、今後さらに詳細な検討によりヒト細胞量を調節する機序の一端が明らかとなる可能性が示された。これらの知見から細胞保護の重要性を引き続き社会に提唱することで、より効果的な糖尿病の予防、治療の確立に貢献していく。

研究成果の概要（英文）：By histological analysis of pancreas tissue, we have reported the effects of DPP-4 inhibitor on beta cell mass. We have also reported the changes in alpha and beta cell mass in individuals with pancreas cancer. Based on the findings of our research, we have published a review article and proposed "beta cell centric concept" as a new therapeutic strategy for diabetes to protect beta cell.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：細胞量 2型糖尿病 細胞量 組織学的検討 治療 予防

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者は世界中で増加の一途を辿っている。現在世界で 4 億 2 千万人と推定される糖尿病患者数は 2040 年には 6 億 4 千万人に増加すると推定されている。1921 年のインスリンの発見に始まり、現在までの間に数多くの抗糖尿病薬が発見・開発され、糖尿病治療は格段に進歩している。しかしながら、現在においても 1 型、2 型いずれの糖尿病も根治することはできない。また、国連は 2006 年に糖尿病の撲滅を決議し、以後世界中で糖尿病の予防に対して多くの努力がなされているにも関わらず、糖尿病患者は増加しているのが現状であり、未だ糖尿病の有効な根治治療や予防法は明らかとなっていない。新たな治療・予防法の開発のためには糖尿病の病態に対するさらなる理解が必要である。

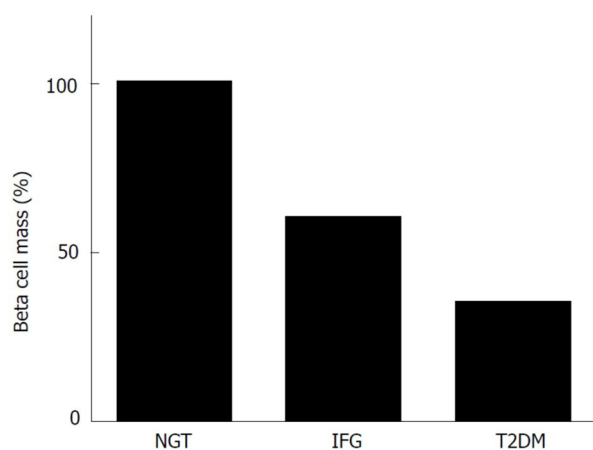


図 1 空腹時高血糖 (IFG) 2 型糖尿病患者 (T2DM) における膵細胞量の減少。NGT: 正常耐糖能者

糖尿病は大きく 1 型、2 型糖尿病に分類されるが、1 型糖尿病が主に自己免疫により細胞が破壊され、細胞量の減少とインスリン分泌の低下・枯渇を特徴とするのに対し、2 型糖尿病はインスリン分泌不全とインスリン抵抗性を特徴とする。2 型糖尿病では肥満、インスリン抵抗性およびそれに伴う高インスリン血症を認めることから、細胞障害についてはこれまであまり注目されてこなかった。また、膵細胞量は非侵襲的に測定できないことから、その病態について多くのことが不明であった。しかしながら近年、Butler 教授らの報告をはじめ、ヒト剖検膵組織を用いた

組織学的検討により、2 型糖尿病患者においても肥満の有無に関わらず膵細胞量は 50-65%減少していることが報告された (Butler AE et al. Diabetes 2003、図 1)。これらの報告により今日、膵細胞量の減少は 1 型、2 型糖尿病に共通した病態であり、膵細胞障害が糖尿病の本態であることが分かってきた (Saisho Y. World J Diabetes 2015, Saisho Y. Expert Opin Pharmacother 2020)。つまりこのことは膵細胞量の回復が、1 型、2 型糖尿病の両者に対する根治療法となり得ることを示している。

したがって、ヒト膵細胞量の生理的・病的变化を検討し、細胞量の調節機構を明らかにすることができれば、糖尿病の根治療法の開発につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本検討の目的は、ヒト膵組織を用いて、様々な生理的・病的条件下における膵内分泌・外分泌組織の組織学的変化を検討することで、膵細胞量の調節機構および調節能、そしてそれに関わる因子を明らかにし、糖尿病の新たな治療戦略の提言を行うことである。

ヒト膵組織を用いた組織学的検討を行っている研究グループは世界的にも限られており、わが国においてはさらに少ない。本研究申請者は米国 UCLA Butler 教授のもとに留学し、米国白人における膵細胞量の肥満・加齢に伴う変化について検討、報告を行ってきた (Meier JJ et al. Diabetes 2008, Saisho Y et al. Diabetes Care 2013)。現在、本申請者は病理学教室や外科学教室との協力により、これまでに 200 例を超える剖検症例、外科膵摘出術施行症例のコホートを確立してきた。これらの豊富な試料を用いて、より正確かつ統計学的検出力を有する研究を遂行することができる。

3. 研究の方法

これまでに本申請者の研究チームは、日本人剖検例での検討により、日本人肥満者における膵細胞量の生理的变化を報告した(Kou K et al. J Clin Endocrinol Metab 2013)。欧米人では肥満者では細胞量が約 50%増加しているのに対し、日本人では肥満者での細胞量の増加を認めなかった。本検討は世界で初めて膵細胞量の生理的变化が人種によって異なる可能性を示したものであり、細胞調節能の違いが人種による糖尿病の病態の違いにつながっている可能性を示唆した重要な知見として海外からも高く評価されている(Arakaki RF. J Clin Endocrinol Metab 2013, Imura H. Proc Jpn Acad Ser B 2013, Yagihashi S et al. J Diabetes Investig 2016)。

またさらに我々は生前のステロイド投与によるインスリン抵抗性存在下においても、日本人では細胞量の増加を認めなかったこと、一方でステロイド糖尿病の患者では細胞量の減少は認めず、ステロイド糖尿病は1型、2型糖尿病とは異なる病態を示すことを報告した(Sato S et al. Diabetes 2015)。さらに膵摘出術施行症例においても肥満と細胞量との間に有意な相関を認めないこと、一方2型糖尿病では肥満の有無に関わらず細胞量は45%減少していることを確認し、報告した(Inaishi J et al. J Clin Endocrinol Metab 2016、図2)。

さらに組織学的検討から我々は膵島のサイズよりも膵島の数がヒトでの細胞量を大きく規定していることを明らかとし、膵島数(密度)を規定する因子の解明がヒトでのより効率的な細胞再生につながる可能性を示した(Kou K et al. J Clin Endocrinol Metab 2014)。さらに膵細胞障害を起こす因子として、膵への異所性脂肪蓄積が一因とされているが、我々は膵内脂肪蓄積と細胞量との間には関連を認めず、その関与はヒトでは少ない可能性を示した(Murakami R et al. J Clin Endocrinol Metab 2017)。これまでの研究結果をもとに我々は膵細胞 workload 仮説として、糖尿病発症前から機能的細胞量の低下が起こっている可能性を提唱している(Saisho Y. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets 2019)。

本研究期間では、さらにこれまでの組織学的検討を継続、発展させることで、以下の検討を計画した。

- 膵細胞量とその他の内分泌細胞量(細胞、PP細胞、細胞、細胞)との関連および他の内分泌細胞量の肥満や糖尿病での生理的・病的変化を明らかにし、近年動物実験で示された細胞のde-differentiation/trans-differentiationのヒトでの意義を明らかとする。
- 膵細胞量と血管密度、アミロイド蓄積との関連について検討し、これらの因子が細胞量に与える影響について明らかとする。
- 膵炎、膵癌など外分泌腺の変化による細胞量への影響を検討することで、膵内分泌 外分泌 関連の存在を明らかとする。
- 正常耐糖能肥満者における膵細胞障害の存在の有無およびその機序について、細胞特異的転写因子(PDX-1, Maf-a)、酸化ストレスマーカー、ERストレスマーカー、オートファジーマーカーなどを用いて検討する。
- CD26/DPP-4, SGLT1/2の膵島での発現について、肥満や糖尿病における変化を検討し、膵島でのCD26/DPP-4, SGLT1/2発現の糖尿病発症、進展における病態的意義について明らかとする。
- その他動物実験などで明らかとなった膵細胞増殖因子などの存在についてもヒト組織での検討を行いヒト糖尿病の病態での意義について明らかとする。

4. 研究成果

ヒトの細胞量に影響を与える因子を探索するため、以下の検討を行った。

(1) 糖尿病治療薬 DPP-4 阻害薬がヒト 細胞量に与える影響

DPP-4 阻害薬は内因性のインクレチン (GLP-1 および GIP) の不活化を抑制し、インクレチン作用を増強する。インクレチンは 細胞に作用し、グルコース濃度依存的にインスリン分泌を促進し、血糖値を低下させる。動物実験では GLP-1 は 細胞の増殖能を高め、細胞量を増加させることが示されている。しかし、ヒトにおいても DPP-4 阻害薬が 細胞量を増加させるかどうかについては不明であった。

我々は当院で膵摘出術を施行された 2 型糖尿病患者 26 名の摘出膵標本を用いて、術前に DPP-4 阻害薬を使用していた患者 (n = 10) と DPP-4 阻害薬を使用していなかった患者 (n = 16) において 細胞量を比較した。細胞量はインスリン染色を用いた組織学的検討を用いて評価し、その他にグルカゴン染色を用いた 細胞量の評価および Ki67 染色を用いた増殖能についての評価も行った。

その結果、両群において 細胞量 (面積) は有意な差を認めなかった ($0.70\% \pm 0.31\%$ vs $0.78\% \pm 0.37\%$, $p = 0.56$)。その他、細胞量や増殖能についても両群で有意な差を認めなかった。本検討は少数例での検討であるが、動物実験との結果の違いを日本人で初めて示した貴重な報告と考える。

(2) 膵癌が 細胞量に及ぼす影響

膵癌の発生はしばしば耐糖能の悪化を伴うが、その機序については不明な点が多い。我々は膵癌患者では 細胞量が減少することで耐糖能が悪化するのではないかと仮説を立て、検証を行った。

当院で剖検を行った症例から、膵癌が死因であった 30 症例 (うち糖尿病患者 9 名) と年齢、BMI がマッチした膵癌以外の死因である対象群 31 症例 (うち糖尿病患者 12 名) を抽出し、両群で 細胞量および 細胞量を組織学的に測定し比較を行った。

その結果、膵癌症例では膵外分泌組織の萎縮や繊維化がより顕著であり、細胞量 / 細胞量比が膵癌患者で有意に大きかった (1.94 ± 1.93 vs 0.59 ± 0.26) (下図)。この結果は糖尿病の有無に関わらず、認められた。

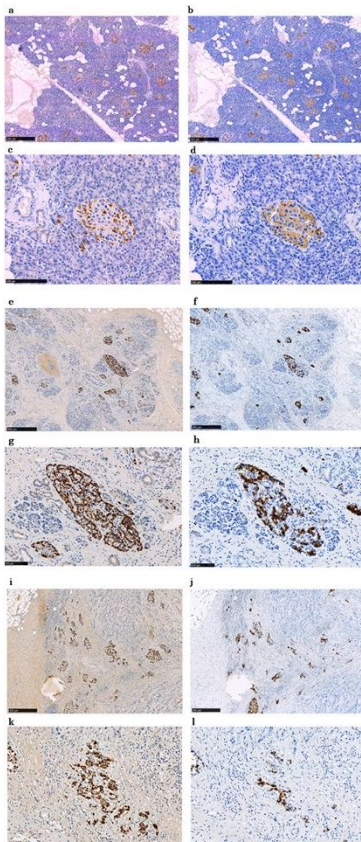
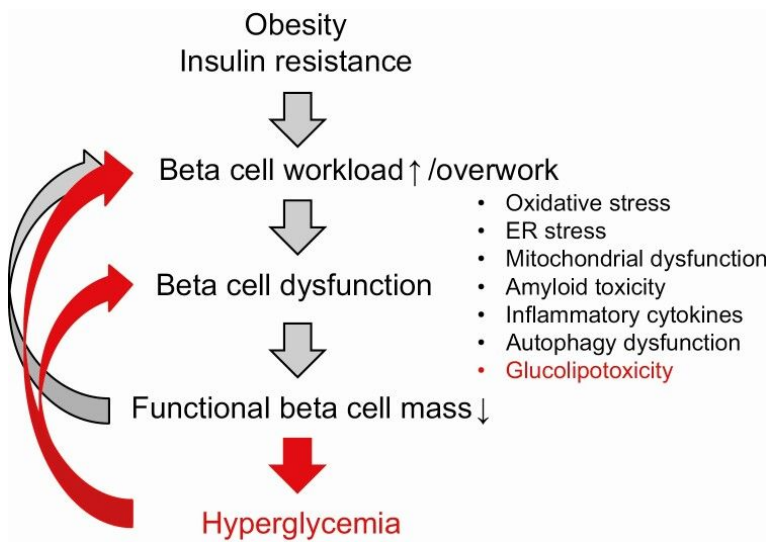


図 グルカゴン染色 (細胞:左) とインスリン染色 (細胞:右) の例。
A-D: 非膵癌症例 (対象群)、E 以下: 膵癌症例

このことから膵癌患者における 細胞量 / 細胞量比の増加が耐糖能異常に寄与している可能性が示唆された。今後さらにその機序の検討により、細胞量調節因子の解明につながる可能性がある。

(3) 細胞保護の重要性: beta cell centric concept の提唱

これまでの研究で得られた知見から、我々はより効果的な 2 型糖尿病の予防・治療戦略を確立するために、細胞保護の概念が重要であると考え、このことを“beta cell centric concept”として提唱した(下図)。



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 2件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Tsuchiya Tami, Saisho Yoshifumi, Inaishi Jun, Sasaki Hironobu, Sato Midori, Nishikawa Masaru, Masugi Yohei, Yamada Taketo, Itoh Hiroshi | 4. 巻 69 |
| 2. 論文標題 Increased alpha cell to beta cell ratio in patients with pancreatic cancer | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Endocrine Journal | 6. 最初と最後の頁 1407 ~ 1414 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1507/endocrj.EJ22-0170 | 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 Sasaki Hironobu, Saisho Yoshifumi, Inaishi Jun, Itoh Hiroshi | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Revisiting Regulators of Human β -cell Mass to Achieve β -cell-centric Approach Toward Type 2 Diabetes | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of the Endocrine Society | 6. 最初と最後の頁 1-14 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/jendso/bvab128 | 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 Sasaki Hironobu, Saisho Yoshifumi, Itoh Hiroshi | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors and Beta Cell Mass in Japanese Adults with Type 2 Diabetes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Endocrine Practice | 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） 10.1016/j.eprac.2022.02.001 | 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 Inaishi Jun, Saisho Yoshifumi | 4. 巻 Volume 14 |
| 2. 論文標題 Exenatide Once Weekly for Management of Type 2 Diabetes: A Review | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Pharmacology: Advances and Applications | 6. 最初と最後の頁 19 ~ 26 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/CPAA.S288846 | 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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 佐々木 裕伸, 税所 芳史, 稲石 淳, 渡辺 雄祐, 土屋 多美, 牧尾 将幹, 佐藤 翠, 西川 賢, 北郷 実, 山田 健人, 伊藤 裕 |
| 2. 発表標題 2型糖尿病における 細胞量減少の主因は、細胞サイズの低下ではなく 細胞数の減少である |
| 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 土屋 多美, 税所 芳史, 稲石 淳, 渡辺 雄祐, 佐々木 裕伸, 牧尾 将幹, 佐藤 翠, 西川 賢, 山田 健人, 伊藤 裕 |
| 2. 発表標題 膵癌患者における膵 細胞量の変化についての検討 |
| 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 |

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|