

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08562

研究課題名（和文）肥満・糖尿病におけるIRE1に着目したUPR制御機構解明と新規治療戦略

研究課題名（英文）UPR regulation and novel therapeutic strategy by targeting IRE1a in obesity-induced diabetes

研究代表者

森田 修平（Morita, Shuhei）

和歌山県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：50372868

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）：肥満糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウス膵島において、IRE1の活性化によるUnfolded Protein Response (UPR)は糖尿病発症前後に増加した。過剰な小胞体ストレスにより引き起こされる膵細胞障害に関連する因子を同定した。これら因子がdb/dbマウス膵島でUPRマーカーの発現とほぼ同じ時期に発現することを確認した。肥満糖尿病モデルマウスに対しKIRAを用い、耐糖能悪化を抑制することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は肥満・糖尿病の病態における生体の恒常性維持機構の一つUnfolded Protein Response (UPR)機構とその主要制御因子IRE1の役割の一旦を明らかにした。新規開発したIRE1特異的阻害薬の肥満・糖尿病に対する治療法の開発基盤構築のため、肥満・糖尿病モデルマウスにおいてその耐糖能に対する効果を確認した。肥満糖尿病において、糖尿病初期状態もしくは発症直前の膵細胞のUPRシグナルへの介入が、新たな治療法の一つとなり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Unfolded Protein Response (UPR), which could be regulated by IRE1, was increased just before and after the onset of diabetes in db/db mouse islets, a mouse model of obese diabetes mellitus. We identified factors associated with pancreatic β -cell injury induced by excessive endoplasmic reticulum stress. We confirmed that these candidate factors are expressed in islets of db/db mice at approximately the same time as the expression of UPR markers. We confirmed that KIRA suppressed the deterioration of glucose tolerance in obese diabetic mouse models.

研究分野：膵細胞

キーワード：恒常性維持機構

1. 研究開始当初の背景

生体の恒常性維持機構の一つである Unfolded Protein Response (UPR)は小胞体における蛋白折りたたみ需要に対する許容量のバランスにより成り立つ。UPR は細胞レベルの機能保持および生死決定に重要な役割を果たし、最終的に個体レベルでの様々な病態に関与する。

申請者らは小胞体ストレスセンサーIRE1 α が自らの RNase 酵素として働きから、小胞体に局在する mRNA の cleavage を介して UPR 制御の主要な役割を担うことをモデル細胞にて示し、従来治療が限局している 1 型糖尿病や網膜色素変性症等のモデル動物における対象臓器の病態悪化に関与していることを示した(*Cell*, 2014)。

特に、1 型糖尿病モデルマウスである NOD マウス膵島において発症直前より細胞保護的に働く適応型 UPR である Adaptive-UPR の上昇を認め、その後細胞死や細胞機能不全を導く Terminal-UPR への変換が行われることを明らかにした。さらに、IRE1 α 特異的阻害薬として小分子化合物 KIRA を新規開発した。特異性を追求した発展型 KIRA である KIRA8 を用いた検討を行い、1 型糖尿病をはじめとした様々な UPR 関連疾患において、IRE1 α を介した UPR 制御が治療として有用である可能性を示した(図 1、*Cell Metab* 2017)。

一方、より対象患者の多い肥満を契機に引き起こされる 2 型糖尿病において、膵細胞の UPR がどの時期からどのように引き起こされるのか、恒常性維持の破綻に至る Adaptive-UPR から Terminal UPR への変換が行われるのか、など未だ詳細が不明な点が多い。

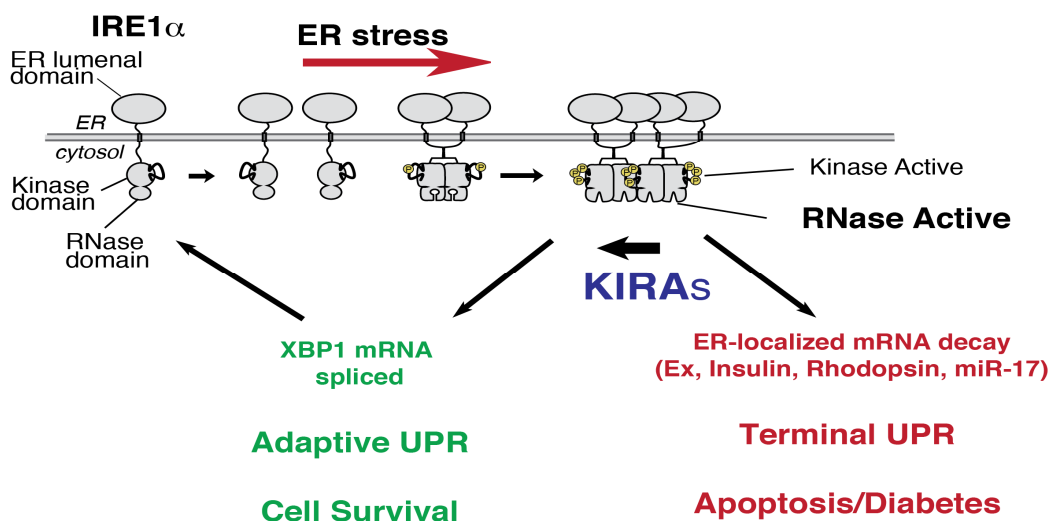


図 1, IRE1 α の kinase 活性とこれに伴う RNase 活性は、細胞死や細胞機能不全に関わる小胞体に局在する様々な mRNA の切断を介して、最終的に細胞死や細胞機能不全を引き起こし、臓器不全に至る (Terminal UPR)。KIRA は不可逆的な小胞体ストレス下においても Terminal UPR を抑制し、細胞および個体の恒常性を保持する。

2. 研究の目的

- (1) 肥満・糖尿病病態における膵細胞での UPR による恒常性維持機構に関連する因子と、その主要制御因子である IRE1 α の動きを時系列で明らかにする。
- (2) 膵細胞における UPR に関連した因子の網羅的解析から、UPR に関連した病態の制御候補因子があるのか否かを探索する。病態制御候補因子が認められれば、肥満糖尿病の病態との関連を検証する。
- (3) 新規開発した IRE1 α 特異的阻害薬 KIRA を用いた、肥満・糖尿病に対する新規治療基盤を構築する。

3. 研究の方法

- (1) 肥満・糖尿病モデルマウスである db/db マウスにおいて、肥満および糖尿病発症前である 5 週令より単離膵島の UPR および IRE1 α 関連因子の mRNA 発現量の評価を時系列で行う。db/db マウスの血糖値および体重推移を中心とした病態の経時的変化と UPR およびその関連因子の発現量との関連を検証する。
- (2) ヒト膵 β 細胞株における UPR 関連因子の発現を網羅的解析から検証する。病態制御候補因子が認められれば、(1)で求めた生体での病態に伴った UPR 関連因子の発現検証と照らし合わせ、肥満・糖尿病の膵 β 細胞における病態制御候補因子の動向を検証する。

- (3) KIRA の有効性につき血糖値を指標に、糖尿病発症前肥満・糖尿病モデルマウスにおいて検討を行う。

4. 研究成果

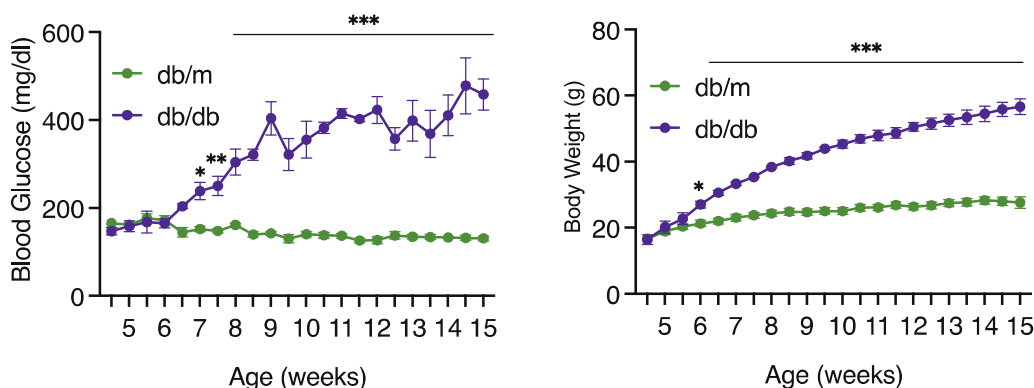


図 2; 当施設における db/db マウスの血糖値及び体重の推移。6 週令より体重増加が開始し、7 週令より血糖値上昇が認められる。db/db マウス単離膵島において、A-UPR マーカーは 7-9 週令で増加する。

- (1) IRE1 α の RNase 活性の指標となる転写因子 *Xbp1* のスプライシング反応によって引き起こされる Spliced form の *Xbp1* 遺伝子(*sXbp1*)の単離膵島での mRNA 発現量は db/db (ホモ) マウスでは db/m (ヘテロ) マウスに比し 7-9 週令で約 3-4 倍増加を認めた。さらに、他の Adaptive-UPR マーカーについても同様の傾向を認めた。すなわち、この時期に IRE1 α の活性化が引き起こされていることが示唆された。

申請者らによって繁殖を行なった db/db マウスコロニーの検討では、6 週令より体重増加が開始し、7 週令より血糖値上昇が認められる(図 2)。その後 8 週令よりさらなる血糖値上昇が認められ糖尿病を発症することから、肥満・糖尿病では UPR/IRE1 α 活性は、(耐糖能の影響に比して) 体重増加による影響が主体として認められる糖尿病発症直前に上昇することが確認できた。

一方で、今回の 5-9 週令での検証において、明らかな Terminal-UPR への変換点は認められなかった。今後、さらに週数を追った検証を考慮するとともに、他の糖尿病モデルマウスでの膵細胞における UPR 変化との違いを再評価する。

- (2) ヒト膵 β 細胞株である EndoC- β H1 細胞において、UPR 反応による関連因子の発現を bulk RNA-sequence にて解析し、病態制御に主たる役割を担いうる候補因子を数因子同定した。これら因子の db/db マウス単離膵島における発現量の経時的変化を、研究期間中に同定した UPR の経時的変化を利用して対応を確認したところ、これら候補因子の発現量変化は *sXbp1* とほぼ同様の動向を示した。これら因子は、細胞機能に関する既知の知見から、細胞保護的に働く Adaptive-UPR マーカーである可能性が考えられた。今後これら因子の、膵細胞恒常性維持機構における役割を検証する。
- (3) 肥満・糖尿病モデルマウスである ob/ob マウスにおいて、耐糖能悪化が認められる直前である 4 週令より KIRA (KIRA8; 50 mg/kg/day) を投与することにより、その後 5 週間、耐糖能改善に寄与することを予備検討にて確認した。今後、他のコホートでの再検討や、他の肥満糖尿病モデルでの検証、糖尿病発症後の KIRA の効果についての検証を要する。

肥満糖尿病モデル動物において、血糖値上昇と体重増加の関係を詳細に検討し、これに応じた IRE1 α 活性に着目した膵島 UPR の変化を経時的に追った報告や、KIRA が肥満糖尿病モデルの耐糖能異常に有効であることを示した報告はない。今回の結果は、今後肥満糖尿病初期状態もしくは発症直前の膵 β 細胞の UPR シグナルへの介入が、臨床的に新たな治療法の一つとなり得る可能性を示唆するものであると考える。

一方、生体での病態に伴った UPR 発現に関連し、これらの現象が膵 β 細胞などの正常内分泌細胞のみではなく機能性内分泌腫瘍にも認められることが、当初予期せず確認された。とくにタンパク過剰産生を行う機能性下垂体神経内分泌腫瘍では、非機能性腫瘍に比し Adaptive-UPR マーカーの上昇を認め、細胞モデルにおいて KIRA の効果が確認できたことから、IRE1 α の制御が糖尿病病態の膵 β 細胞のみならず、UPR 関連内分泌細胞・腫瘍においても重要であることが示唆された(*Endocrinology* 2024)。

これらの知見は、今後肥満糖尿病などの UPR 関連疾患において、これらをターゲットとした病態の理解が新規治療法開発に重要であることを示唆するものであると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Morita Shuhei, Uraki Shinsuke, Ariyasu Hiroyuki, Tsuji Tomoya, Doi Asako, Furuta Hiroto, Yamoto Toshikazu, Nakao Naoyuki, Akamizu Takashi, Matsuoka Taka-aki	4. 巻 165
2. 論文標題 Profiling of Unfolded Protein Response Markers and Effect of IRE1 -specific Inhibitor in Pituitary Neuroendocrine Tumor	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/endo/bqae008	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3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松岡孝昭
2. 発表標題 2型糖尿病の成因であり結果としての膵 細胞障害
3. 学会等名 第 58 回糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 松岡孝昭
2. 発表標題 膵 細胞障害進展予防に向けて
3. 学会等名 第 67 回日本糖尿病学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 森田修平
2. 発表標題 IRE1 を新規標的とした糖尿病治療
3. 学会等名 第72回日本体質医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2022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		
米国	University of California, San Francisco		