

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011 ～ 2012
 課題番号：23791017
 研究課題名（和文） 2 型糖尿病における膵β細胞 Tcf712 の生理的・病態生理的役割の解明
 研究課題名（英文） Physiological and pathophysiological roles of Tcf712 in pancreatic β cell in type 2 diabetes
 研究代表者
 高本 偉碩（TAKAMOTO ISEKI）
 東京大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号：60431871

研究成果の概要（和文）：Wnt/β カテニンシグナルの一翼を担う転写因子 Tcf712 は、2 型糖尿病感受性遺伝子の 1 つとして同定されたが、2 型糖尿病の発症機序が、Tcf712 が関与する経路の機能亢進によるものなのか、機能低下によるものなのかは、未だ議論がある。そこで本研究では、Tcf712 が膵β細胞で担う役割を *in vivo* で明らかにすることを目的として、Tcf712 の機能を膵β細胞で低下させたモデル動物を作成し、その表現型を解析した。その結果、*in vivo* で膵β細胞における Tcf712 は膵β細胞量と膵臓インスリン量の制御を通じて、個体としてのインスリン分泌能に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Common genetic variations of TCF7L2, one of the TCF/LEF transcription factors for the converging Wnt/β-catenin signaling pathway, are known to be associated with type 2 diabetes mellitus. To elucidate the role of TCF7L2-mediated pathway from the embryonic stage, genetically engineered mice were generated in which the dominant-negative form of Tcf712 expression was driven under the Rat Insulin Promoter. The phenotypes of these mice suggest that the TCF7L2-mediated pathway in pancreatic β cells plays a crucial role in glucose metabolism through the regulation of β-cell mass and pancreatic insulin amount.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：エネルギー・糖質代謝異常

1. 研究開始当初の背景

2006 年、疾患感受性領域に関する位置情報をもとに患者対照相関解析により欧米人における 2 型糖尿病の原因遺伝子として Tcf712 が同定された (Nature Genetics 38:320, 2006)。それまで Tcf712 は Wnt シグナルの一翼を担う転写因子として細胞の癌化や諸臓器の発生・分化に重要な役割を果たすことが知られていたが、糖代謝との関連に注目した検討は皆無であったためこの発見は驚きをもって迎えられた。我々も日本人に

において Tcf712 遺伝子が 2 型糖尿病の原因遺伝子であることを報告した (Diabetologia 50:747, 2007)【図 1】。特筆すべきは、後に様々な人種・地域において実施された数々のゲノムワイド関連解析 (GWAS) においても Tcf712 は常に 2 型糖尿病の原因遺伝子として追試され、しかも GWAS で同定された他の 2 型糖尿病の原因遺伝子と比較しても、発症危険度が高いことである。さらに臨床的には、Tcf712 遺伝子のリスクアレル保持者ではインスリン分泌が低下していることが報告されている。

【図1】Tcf7l2は日本人でも2型糖尿病の原因遺伝子である

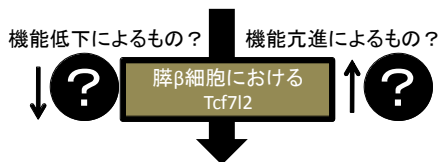
全対象				
rs7903146 遺伝子型	2型糖尿病 (n=1174)	対照 (n=822)	p- value	オッズ比
CC	0.90	0.94	0.0018	1.69 (1.60-2.12)
CT+TT	0.10	0.06		
BMI<25				
rs7903146 遺伝子型	2型糖尿病 (n=403)	対照 (n=554)	p- value	オッズ比
CC	0.87	0.94	<0.0001	2.44 (2.23-3.13)
CT+TT	0.13	0.06		

近年、2型糖尿病臨床において新規に登場したインクレチン関連薬には膵β細胞保護効果の可能性に大きな期待が寄せられており、我が国においても2009年にDPP-4阻害薬が、2010年にGLP-1受容体作動薬が承認され、臨床の現場で広く使用されつつある状況にある。Tcf7l2遺伝子のリスクアリル保持者では、インクレチンによるインスリン分泌促進作用・血糖降下作用が低下していると報告されているが、これには異論もある。

2型糖尿病の発症機構の解明と最適な治療の実践において膵β細胞におけるTcf7l2の機能解析は重要な研究課題である。そもそもヒトにおける「インスリン分泌低下」という表現型がTcf7l2の機能亢進あるいは機能低下によるものなのかですら、未だ明確な結論が得られておらず、膵β細胞でTcf7l2が担う生理的・病態生理的役割の多くは不明である【図2】。

加えて、モデル動物として全身のTcf7l2遺伝子欠損マウスは存在しているものの、腸管の構造異常により出生後間もなく死亡するため、本マウスを用いた成体における糖代謝の検討は極めて困難であると推察された。

【図2】ヒトでTcf7l2はインスリン分泌に関与する



2. 研究の目的

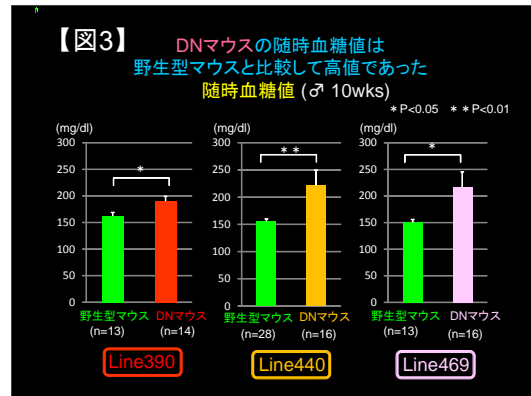
そこで我々は、ヒトにおいてTcf7l2がインスリン分泌能と関係していることに着目し、Tcf7l2が膵β細胞で担う役割をin vivoで明らかにすることを目的として、膵β細胞でTcf7l2の機能を低下させたモデル動物の作製を試みた。

3. 研究の方法

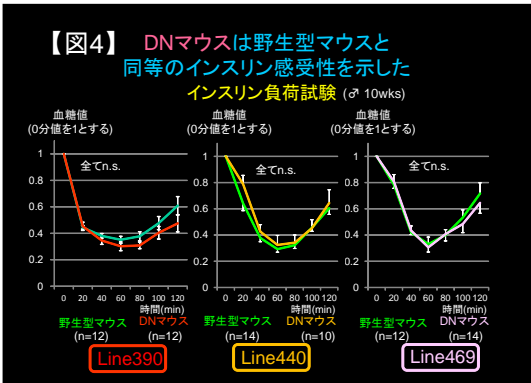
Tcf7l2のdominant negative型変異(DN-Tcf)をRIPプロモーター(Rat Insulin Promoter)の下流につなぐコンストラクトを構築しトランスジェニックマウス(RIP-DNTcf-Tg;以下DNマウスと略記)を作成した。樹立した6ラインのうち、膝島におけるDN-Tcfの発現量が内因性のTcf7l2の発現量の10倍以上あることが確認できた独立した3ライン(390,440,469)を選抜・検討した。

4. 研究成果

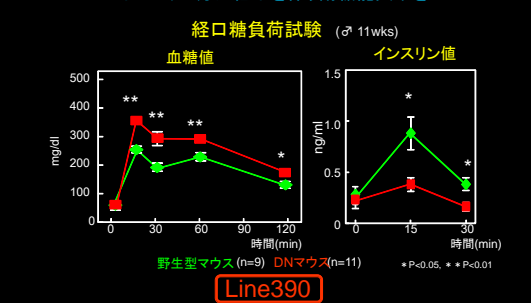
3ラインにおいてDNマウスは野生型マウスと比較して体重は同程度であったが、随時血糖値は高値を示した【図3】。



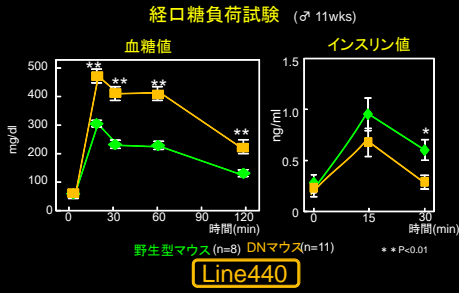
またインスリン感受性は同程度であったが【図4】、経口糖負荷試験【図5~7】ならびに腹腔内糖負荷試験【図8~10:点線のグラフ】を行うと、DNマウスは野生型マウスと比較してインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した。



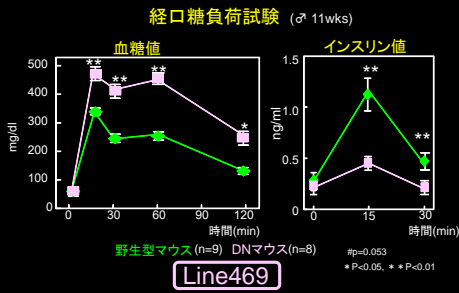
【図5】DNマウス(Line 390)は経口糖負荷試験にてインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した



【図6】 DNマウス(Line 440)は経口糖負荷試験にてインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した

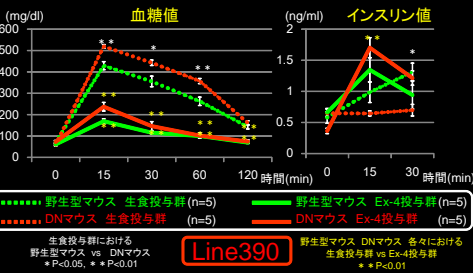


【図7】 DNマウス(Line 469)は経口糖負荷試験にてインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した

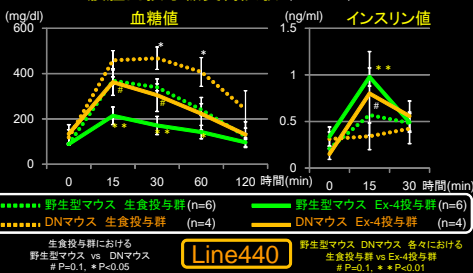


膵β細胞に対するインクレチン作用を評価するために、腹腔内糖負荷試験時に GLP-1 受容体作動薬である exendin-4 を十分量投与すると、野生型マウスと同様に DN マウスにおいてもインスリン分泌増加を伴う耐糖能改善効果を認めた【図 8~10:実線のグラフ】.

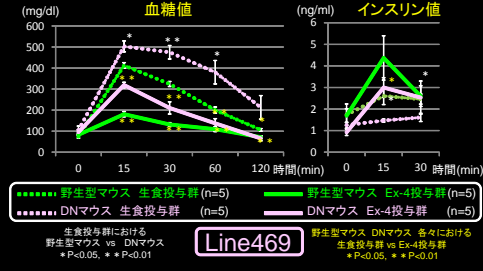
【図8】 DNマウス(Line 390)は腹腔内投与糖負荷試験にもインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈したが、Exendin-4(24nmol/kg)の反応性は良好であった



【図9】 DNマウス(Line 440)は腹腔内投与糖負荷試験にもインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈したが、Exendin-4(24nmol/kg)の反応性は良好であった

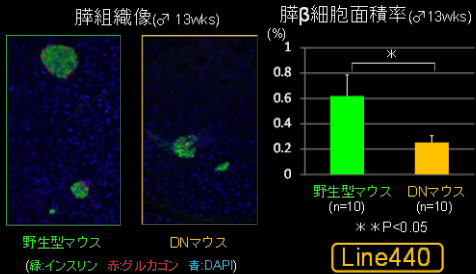


【図10】 DNマウス(Line 469)は腹腔内投与糖負荷試験にもインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈したが、Exendin-4(24nmol/kg)の反応性は良好であった

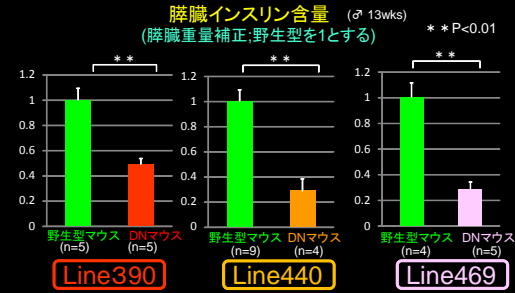


さらに, DN マウスは膵組織像での膵β細胞面積の減少と膵臓インスリン含量の減少を呈した【図 11,12】.

【図11】 DNマウス(Line 440)は膵β細胞量が減少していた

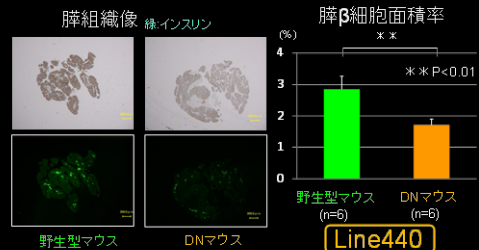


【図12】 DNマウスは膵臓のインスリン含量が減少していた



同様の表現型は、離乳時期ならびに出生直後のマウスでも認められた【図 13】.

【図13】 出生直後のDNマウス(Line440)は膵β細胞量が減少していた



以上から, in vivo で膵 β 細胞における Tcf712 は膵 β 細胞量と膵臓インスリン量の制御を通じて, 個体としてのインスリン分泌能に重要な役割を果たしている可能性が示唆された.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

高本偉碩. Wntシグナルと膵内分泌細胞分化. 内分泌・糖尿病・代謝内科 (査読無); 36, 204-210, 2013

[学会発表] (計 4 件)

1) ISEKI TAKAMOTO. Role of Tcf712-Mediated Pathway in Pancreatic Beta Cell In Vivo.

ADA's 72nd Scientific Sessions. 2012 年 6 月 9 日. Philadelphia, 米国

2) 高本偉碩. 2 型糖尿病感受性遺伝子 Tcf712 が膵β細胞で担う役割の解明. 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2012 年 5 月 19 日. 横浜

3) 高本偉碩. 膵β細胞の Tcf712 は膵β細胞量維持に重要な役割を果たしている. 第 61 回日本体質医学会総会. 2011 年 10 月 8 日. 東京

4) 高本偉碩. 膵β細胞の Tcf712 は膵β細胞量維持に重要な役割を果たしている. 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2011 年 5 月 20 日. 札幌

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高本 偉碩 (TAKAMOTO ISEKI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 60431871

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

窪田 直人
熊谷 勝義
中屋 恵三
小畑 淳史
門脇 孝