

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔平成27年度研究進捗評価用〕

平成24年度採択分  
平成27年3月16日現在

メタボロミクスによる膵β細胞機能制御機構の解明とその臨床応用

Elucidation of pancreatic β-cell function by metabolomics and its clinical application

課題番号：24229007

清野 進 (SEINO SUSUMU)

神戸大学・大学院医学研究科・特命教授



研究の概要 インスリン分泌、膵β細胞の分化・再生、ならびに糖尿病の病態における糖・脂質代謝シグナルは殆ど解明されていない。本研究では、メタボロミクスを駆使したアプローチにより、1. インスリン分泌における糖・脂質代謝シグナルの同定とその役割の解明、2. 膵β細胞分化・再生における糖・脂質代謝シグナルの同定とその役割の解明、3. 糖・脂質代謝シグナルに由来する新たな糖尿病の病態マーカーと治療標的の同定を目標とする。

研究分野：糖尿病

キーワード：インスリン分泌、メタボローム

1. 研究開始当初の背景

膵β細胞の糖・脂質代謝はβ細胞機能に極めて重要な役割を担っている。しかし、①インスリンの分泌制御、②膵β細胞の分化・再生、③糖尿病の発症や病態において、どのような糖・脂質代謝シグナルがそれらのメカニズムの鍵となっているかは殆ど不明である。

2. 研究の目的

本研究では下記の3つの課題を設定し、特性の異なる膵β細胞株、膵島、病態モデル動物やヒトのサンプルを用いて包括的メタボローム解析を行い、上記のメカニズムの鍵となる代謝シグナルを解明する。

1. インスリン分泌における糖・脂質代謝シグナルの同定とその役割の解明
2. 膵β細胞分化・再生における糖・脂質代謝シグナルの同定とその役割の解明
3. 糖・脂質代謝シグナルに由来する新たな糖尿病の病態マーカーと治療標的の同定

3. 研究の方法

課題1：種々の条件で刺激した膵β細胞株における細胞内代謝物の包括的メタボローム解析を行い、新たな代謝シグナルを同定する。さらにシグナル間の相互作用を明らかにし、インスリン分泌における役割を細胞レベル、膵島レベル、個体レベルで解明する。

課題2：任意のタイミングで膵β細胞を選択的に標識できるマウスを利用して、正常分化の過程や、病的状態における膵β細胞の包括

的メタボローム解析を行い、分化・再生における糖・脂質代謝の役割を解明する。

課題3：2型糖尿病の動物モデルおよび正常、境界型、糖尿病のヒトを対象とした包括的メタボローム解析から糖・脂質代謝シグナルに由来する新たな糖尿病の病態マーカーおよび治療標的を同定する。

4. これまでの成果

課題1：食事摂取に応じて腸管から分泌されるインクレチン（GLP-1およびGIP）は膵β細胞に作用し、cAMPシグナルを介してグルコース濃度依存性にインスリン分泌を増強する。インクレチン/cAMPシグナルはPKA依存性およびEpac2A依存性経路を介して作用するが、そのグルコース依存性の作用メカニズムは不明であった。本課題では、我々が確立したインクレチンに応答する膵β細胞株MIN6-K8とインクレチンに応答しない細胞株MIN6-K20を用いた比較メタボローム解析により、グルコース依存性にリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルを介して産生されるグルタミン酸がインクレチンによるインスリン分泌の鍵となるシグナルであることを発見した（Cell Rep, 2014）。この発見は、長年不明であったインクレチン/cAMPシグナルによるインスリン分泌メカニズムの解明につながるインパクトのある成果であり、メディアでも取り上げられた。

課題2：膵β細胞量の変化に関与する条件（タイミング）やメカニズム（増殖か新生か）は殆ど理解されていない。本課題では、我々

が開発した膵β細胞量制御における自己複製（増殖）と新生を区別して解析することができる Ins2-CreER/R26R-YFP ダブルノックインマウスを用いた解析から、糖尿病治療薬として使用されている GLP-1 受容体作動薬が糖尿病状態でダメージを受けた膵β細胞機能を正常化するとともに、その増殖を促進し細胞死を抑制するという知見を得た（論文投稿中）。GLP-1 受容体作動薬の機能発現に関与する代謝シグナルが明らかになれば、細胞代謝という新たな点から膵β細胞の分化・再生の理解が進み、β細胞の質的および量的改善という糖尿病の新規な再生治療に結びつくことが期待される。

また、膵細胞の初期化や分化に伴う代謝変化については不明な点が多い。我々は、膵外分泌細胞から iPS 細胞を樹立し、線維芽細胞に由来する iPS 細胞とは代謝プロファイルと自律的分化能が異なることを見出し、これらの相違には由来細胞のエピジェネティックメモリーが関与する可能性を示した (*Genes Cells, in press*)。iPS 細胞から膵β細胞への効率的な分化を実現するために考慮すべき重要な知見である。

課題3：糖尿病の発症・進展を予防するには、早期の病態を鋭敏に反映するバイオマーカーが必要である。本課題では、日本人を含むアジア人に多いインスリン分泌不全型糖尿病のモデルである SDT ラットを用いた経時的メタボローム解析により、糖尿病発症前から血中のトリプトファンおよびその代謝物が低値を示すことを見出した (*Metabolomics, in press*)。血糖値や HbA1c 以外の全く新しい糖尿病バイオマーカーとなる可能性があり、糖尿病の発症予防や病態診断のブレイクスルーとなるだけでなく、糖尿病の新たな治療標的となるものと期待される。

前述の課題1において発見したインクレチンによるインスリン分泌の鍵となるグルタミン酸シグナルの下流には PKA 依存性および Epac2A 依存性の経路が存在する。以前我々は、Epac2A が糖尿病治療薬であるスルホニル尿素 (SU) 薬の直接的な標的であることを発見した (*Science, 2009*)。本課題では、Epac2A における SU 薬の結合部位を同定し、SU 薬と cAMP が協調的に Epac2A を活性化することを明らかにした (*Sci Signal, 2013*)。さらに、Epac2A を介した SU 薬とインクレチンの相互作用が両者の併用によるインスリン分泌増強において重要であること、SU 薬の種類（構造）により Epac2A との結合様式が異なり、インクレチンとの併用効果に違いがあることも明らかになった (*Diabetes, in press*)。SU 薬とインクレチン関連薬の併用は、多くの2型糖尿病患者の血糖改善に効果があるが、重篤な低血糖を来す症例も報告されている。一方、SU 骨格を持たず Epac2A

を特異的に活性化する化合物は低血糖を誘発しないと考えられることから、Epac2A を介したインスリン分泌機構の解明は安全かつ有効な糖尿病治療のために極めて重要である。

## 5. 今後の計画

課題1：これまでに同定したグルタミン酸シグナルについて病態生理学的役割を検討するとともに、遊離脂肪酸などで刺激した膵β細胞株を用いたメタボローム解析により、新たな代謝シグナルを同定し、そのインスリン分泌における役割を解明する。

課題2：正常分化の過程や、病的状態における膵β細胞のメタボローム解析により、分化・再生における糖・脂質代謝シグナルを同定し、その役割を解明する。

課題3：これまでに同定したバイオマーカー候補について責任臓器の特定やヒトサンプルを用いた検証を行うとともに、動物モデルおよびヒトを対象としメタボローム解析により、新たな糖尿病の病態マーカーおよび治療標的を同定する。

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

1. Yokoi N, Beppu M, Yoshida E, Hoshikawa R, Hidaka S, Matsubara T, Shinohara M, Irino Y, Hatano N, \*Seino S. Identification of putative biomarkers for prediabetes by metabolome analysis of rat models of type 2 diabetes. *Metabolomics* (in press)
2. Nukaya D, \*Minami K, Hoshikawa R, Yokoi N, \*Seino S. Preferential gene expression and epigenetic memory of induced pluripotent stem cells derived from mouse pancreas. *Genes Cells* (in press)
3. Takahashi H, Shibasaki T, Park JH, Hidaka S, Takahashi T, Ono A, Song DK, \*Seino S. Role of Epac2A/Rap1 signaling in interplay between incretin and sulfonylurea in insulin secretion. *Diabetes* (in press)
4. Gheni G, Ogura M, Iwasaki M, Yokoi N, Minami K, Nakayama Y, Harada K, Hastoy B, Wu X, Takahashi H, Kimura K, Matsubara T, Hoshikawa R, Hatano N, Sugawara K, Shibasaki T, Inagaki N, Bamba T, Mizoguchi A, Fukusaki E, Rorsman P, \*Seino S. Glutamate acts as a key signal linking glucose metabolism to incretin/cAMP action to amplify insulin secretion. *Cell Rep* 9:661-673, 2014
5. Takahashi T, Shibasaki T, Takahashi H, Sugawara K, Ono A, Inoue N, Furuya T, \*Seino S. Antidiabetic sulfonylureas and cAMP cooperatively activate Epac2A. *Sci Signal* 6:ra94, 2013
6. 清野 進: 第50回エルウィン・フォン・ベルツ賞 1等賞 2013年10月16日

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/phys1/>