

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461395

研究課題名(和文) 消化管ホルモン IBCAP の膵細胞機能調節と生理的意義の解明

研究課題名(英文) The analysis of the novel intestinal hormone, IBCAP (Betagenin) in the pancreatic beta-cells functions.

研究代表者

豊島 秀男 (Toyoshima, Hideo)

埼玉医科大学・医学部・客員准教授

研究者番号：20197966

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は以前より消化管に注目し独自の新規消化管ホルモンとしてBetagenin = IBCAPを同定し解析を行ってきた。今回、Betagenin活性型ペプチドを合成しその効果を検討した結果、この合成ペプチドに膵細胞増殖促進作用を持つことが確認された。さらにSTZ処理1型糖尿病モデルマウスに投与したところ、糖尿病が改善し膵細胞の増加を誘導した。
以上よりBetageninは糖尿病治療標的となり得る可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We identified a gene of Betagenin = IBCAP as a novel intestinal hormone. Here, we synthesized a betagenin active peptide, and this peptide was found to stimulate DNA synthesis of the MIN6 cell in vitro. And this peptide injection alleviated diabetes in STZ treated diabetic mice. Our findings suggest betagenin as a potential therapeutic target for diabetes.

研究分野：代謝内分泌学

キーワード：糖尿病

1. 研究開始当初の背景

現在、消化管ホルモンであるインクレチン (GLP-1、GIP) はインスリン分泌を誘導することが明らかとなっており、また、膵β細胞保護作用との関連も示唆されている。近年、GLP-1 アナログや GLP-1 分解酵素である DPP-IV の阻害薬は新しい糖尿病治療薬として臨床の場で大きな成功を収め注目されており、膵β細胞の保護作用についても期待されている。

我々は以前より消化管に注目し、新しい消化管ホルモンの探索を目的に SST (Signal Sequence Trap) 法によりスクリーニングし、新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子 Betagenin = IBCAP を同定した。

この Betagenin は、機能の一部として、マウス単離ラ氏島におけるインスリン分泌刺激を誘導することが判明している。また、トランスジェニック (Tg) マウスや、アデノウイルスによる Betagenin を強制発現させたマウスでは膵臓ラ氏島に作用し、ラ氏島の増殖や保護作用など形態学変化を起こすことも明らかとなっている。さらに、*in vitro* の系でも膵β細胞の増殖を示すこと、さらに、マウス肝臓に強制発現するとインスリン陽性細胞が出現することを見出しつつあり、この Betagenin は GLP-1 や GIP に次ぐ第3のインクレチンになり得る可能性を持っている。そのため、膵臓移植や膵臓再生医療への応用も含め、糖尿病、特に1型糖尿病の治療薬になり得る可能性があり期待されている。

2. 研究の目的

我々は、これまでに新規消化管ホルモン因子として Betagenin を同定し、解析を行ってきた。この Betagenin は機能や生理的意義について未知であり、有用性が明らかになれば、1型のみならず2型糖尿病治療への直接的な応用が期待され、さらに糖尿病治療薬への創薬へとつながる。

そこで本研究では、Betagenin の生理的意義を明らかにすることで、生活習慣病、特に糖尿病の病態のより詳細な説明および治療への発展を目的として行った。

3. 研究の方法

本研究では、消化管ホルモン Betagenin の未だに解明されていない生理的意義を明らかにするために、具体的には以下について検討を行った。

(1) Betagenin 活性体の1次構造決定

Betagenin は、プレホルモンから切断されて分泌および活性化される可能性が示唆されていることから、その1次構造の決定を目指し Betagenin 強制発現細胞培養上清からの精製、構造解析を行った。

(2) Betagenin 合成ペプチドの活性の確認

上記解析により得られた1次構造情報を基に合成ペプチドを作製し、その活性を膵β細胞の増殖について *in vitro*, *in vivo* の両面から確認した。

4. 研究成果

(1) Betagenin 活性体の1次構造決定

今回、Betagenin 活性体ペプチドの1次構造の決定を目指し、Betagenin 強制発現細胞培養上清から HPLC 精製を行った。その結果、この精製 Fraction を LC-MS/MS にて解析し、ペプチド1次構造を決定した。

(2) Betagenin 合成ペプチドの活性の確認

(1)で決定したペプチド断片に本当に活性があるか否かについて、ペプチドを合成し確認を行った。

膵β細胞の培養細胞株である MIN6 細胞を用いて EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) の取り込みあるいは、Ki67 を指標に細胞増殖能を検討した結果、この Betagenin 活性体合成ペプチ

ドには膵β細胞増殖刺激作用を持つ事を強く示唆する結果を得た。

さらに、STZ 投与 1 型糖尿病モデルマウスにこの活性型合成ペプチドを投与すると、今後の詳細な検討は必要だが、糖尿病が改善する可能性を示唆するデータを得た。

今回の結果から Betagenin 合成ペプチドは *in vitro* において膵β細胞増殖刺激作用を持ち、さらに、*in vivo* においても糖尿病改善効果を持つ可能性を示唆している。

Betagenin は他の消化管ホルモンと有意なホモロジーを持たない独自のタンパクである。活性体のタンパク修飾や誘導体化などの更なる最適化が必須だが、今回の検討の結果を併せて考えると、Betagenin は糖尿病治療の新しい標的となりうる可能性が考えられ、創薬・臨床への応用が期待される。

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 0 件)

[学会発表] (計 7 件)

横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、高島成二、島野仁、山田信博、岡崎康司、豊島秀男、新規消化管ホルモン Betagenin は膵β細胞の増殖を刺激し 糖尿病を改善する、第 13 回 RCGM フロンティアシンポジウム、埼玉医科大学創立 30 周年記念講堂 (埼玉県日高市)、2015.10.31-11.1

Toyoshima H、Yokoo T、Betagenin, a novel intestinal hormone, increases β-cell and alleviates diabetes. 第 58 回 日本糖尿病学会年次学術集会、下関市民会館 (山口県下関市)、2015.5.23

Yokoo T、Yamashita-Sugahara Y、Watanabe

K、Tada-Iida K、Suzuki H、Shimano H、Yamada N、Okazaki Y、Toyoshima H、Effect of Betagenin on Pancreatic beta-cell Proliferation and Differentiation, 第 12 回 RCGM フロンティア国際シンポジウム、埼玉医科大学創立 30 周年記念講堂 (埼玉県日高市)、2014.11.1

菅原泉、横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、山田信博、岡崎康司、豊島秀男、iPS 細胞を用いた、新規消化管ホルモン IBCAP が膵β細胞分化に与える影響の検討、第 57 回 日本糖尿病学会年次学術集会、大阪国際会議場 (大阪府大阪市)、2014.5.22

横尾友隆、菅原泉、渡邊和寿、鈴木浩明、島野仁、山田信博、岡崎康司、豊島秀男、膵β細胞分化における消化管ホルモン IBCAP の役割、第 11 回 RCGM フロンティアシンポジウム、埼玉医科大学創立 30 周年記念講堂 (埼玉県日高市)、2013.11.23

横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、岡崎康司、豊島秀男、新規消化管ホルモン IBCAP による膵β細胞分化・増殖作用の解析、第 56 回 日本糖尿病学会年次学術集会、テトリア熊本ビル (熊本県熊本市)、2013.5.16

豊島秀男、横尾友隆、鈴木浩明、石川三衛、川上正舒、島野仁、山田信博、岡崎康司、消化管ホルモン IBCAP による膵β細胞分化増殖に与える影響、第 86 回 日本内分泌学会学術集会、仙台国際センター (宮城県仙台市)、2013.4.25

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 2 件)

名称：新規ペプチド及びその用途

発明者：豊島秀男、岡崎康司、横尾友隆、

菅原泉

権利者：埼玉医科大学

種類：特許

番号：特願 2013-109801

出願年月日：平成 25 年 5 月 24 日

国内外の別：国内

名称：膵臓ホルモン産生細胞の生産方法及び膵臓ホルモン産生細胞、並びに分化誘導促進剤

発明者：豊島秀男、岡崎康司、横尾友隆、

菅原泉

権利者：埼玉医科大学

種類：特許

番号：特願 PCT/JP2013/064469

出願年月日：平成 25 年 5 月 24 日

国内外の別：国外

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

豊島 秀男 (TOYOSHIMA HIDEO)

埼玉医科大学・医学部・客員准教授

研究者番号：20197966

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

岡崎 康司 (OKAZAKI YASUSHI)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：80280733

横尾 友隆 (YOKOO TOMOTAKA)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：80400688