

平成 30 年 5 月 14 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09399

研究課題名(和文) ヒト膵 細胞量調節機構に関する包括的検討

研究課題名(英文) Regulation of human beta cell mass

研究代表者

税所 芳史 (Saisho, Yoshifumi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：90327510

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本検討の目的はヒト(日本人)での細胞量の生理的、病的変化を明らかにし、その調節機構を解明することである。我々は剖検膵標本および膵摘出術を施行された患者の膵組織を用いて、日本人における膵細胞量の肥満や糖尿病における変化を検討し、2型糖尿病では細胞量が46%減少していることを報告した(J Clin Endocrinol Metab 2016)。また動物では膵内脂肪蓄積が細胞障害を惹起することが示されているがヒトではその関与は少ないことを報告した(J Clin Endocrinol Metab 2017)。

研究成果の概要(英文)：Aim of the study was to explore physiological and pathological regulations in beta cell mass in humans (Japanese). We have examined effects of obesity and diabetes on alpha and beta cell mass in humans and found a reduction in beta cell mass by 46% in Japanese patients with type 2 diabetes (Inaishi J et al. J Clin Endocrinol Metab 2016). Deleterious effects of pancreatic fat accumulation on beta cell has been shown in animal studies, which is postulated as a cause of type 2 diabetes development. By examining human pancreas, we have shown that intra-pancreatic fat accumulation has little effect on beta cell mass and glucose intolerance (Murakami R et al. J Clin Endocrinol Metab 2017).

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：糖尿病 2型糖尿病 細胞量 肥満 日本人 膵内分泌細胞 組織学

### 1. 研究開始当初の背景

近年、1型、2型糖尿病ではともに膵細胞量が減少していることが報告され、細胞の障害が糖尿病に共通した病態であることが強く示唆されている。したがって細胞量の回復は1型、2型糖尿病の治癒につながる可能性があるが、ヒトでの細胞量についての系統的な検討はこれまでほとんどされていない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、日本人の剖検膵標本を用いて、肥満、加齢、ステロイド投与、糖尿病などによるインスリン抵抗性下での生理的・病的な細胞量の変化について詳細に検討を行うことで、日本人における内因性細胞再生能を明らかとし、2型糖尿病の発症予防、根治療法の手掛かりを探ることである。また、外科での膵摘出標本を用いて、細胞量と耐糖能・インスリン分泌能との関連についても明らかとする。

### 3. 研究の方法

剖検膵標本を用いて日本人非糖尿病患者における細胞量および細胞ターンオーバーを主に免疫染色を用いて測定し、様々なインスリン抵抗性存在下での変化、すなわち加齢や肥満による生理的变化、またステロイド投与下による変化を明らかにする。また、日本人2型糖尿病患者における細胞量の減少および細胞ターンオーバーの変化について、年齢、BMIをマッチさせたコントロールを用いて明らかにする。細胞の質的变化として酸化ストレスマーカー、小胞体ストレスマーカー、細胞特異的転写因子/蛋白、インクレチン受容体発現の変化についても検討を行う。さらに細胞以外の内分泌細胞の変化(細胞、細胞、PP細胞)についても検討し、ヒトにおける膵内分泌細胞の生理的・病的変化を明らかとする。さらに同様の検討を外科での膵摘出症例の膵標本でも行い、細胞量とインスリン分泌能との関連について明らかとする。さらに細胞量に関わる因子を明らかとするため、膵内脂肪蓄積、膵実質の線維化、アミロイド蓄積、膵血管密度などについても組織標本を用いて形態学的検討を行う。

【細胞面積】各症例より5µmの膵切片を作成、インスリン染色(インスリンおよびHematoxylin)を行う。切片全体をスキャンした後、解析ソフトを用いて全膵面積当たりの細胞面積(%)を測定する。加えて、ラ氏島の密度、各ラ氏島のサイズ、および細胞新生のマーカーであるインスリン陽性膵管細胞の頻度を測定し、これらの形態学的な特徴についても群間で比較を行う。これらの解析は全てButler研究室および本研究室で

確立された方法を用いて行う(Saisho, Diabetes Care 2013 and Kou, JCEM 2013)。

【細胞量】細胞量は、上記で求めた細胞面積に膵臓(膵実質)の重量を掛け合わせて求める(Saisho, Clin Anat 2007)。

【細胞ターンオーバー】細胞のターンオーバーを検討するため、上記の症例に対しインスリンとの二重染色を行い、細胞の複製(Ki67)、アポトーシス(TUNEL, ss-DNA および cleaved PARP)を計測する。

【細胞量、細胞量、PP細胞量】インスリンと同様の手法を用いて免疫染色により定量化を行う。

### 4. 研究成果

当院での膵摘出術を施行された患者99例の膵組織を用いて、膵細胞量の肥満や糖尿病での変化を検討した。その結果、細胞量は糖尿病患者において、年齢、BMIをマッチさせた非糖尿病のコントロールと比べて46%減少していることが明らかとなった(1.48 ± 1.08% vs. 0.80 ± 0.54%, P < 0.001)。一方、細胞量は両群で有意な差を認めなかった。糖尿病の有無に関わらず、肥満度、過去の肥満歴あるいは過去最高体重といった肥満の指標はいずれも細胞量や細胞量に明らかな関連を認めなかった。細胞量は手術前後のHbA1cやその他の血糖コントロールの指標と有意な負の相関を認めしたが、細胞量との間にはそのような関連は認めなかった。以上のことより、インスリン抵抗性下における細胞量の変化は日本人では極めて限定的であること、また、細胞量ではなく、細胞量が血糖コントロールを規定する主要な因子であることが明らかとなった。これらの結果は英文誌(Inaishi et al. J Clin Endocrinol Metab 2016)に報告された(下図)。

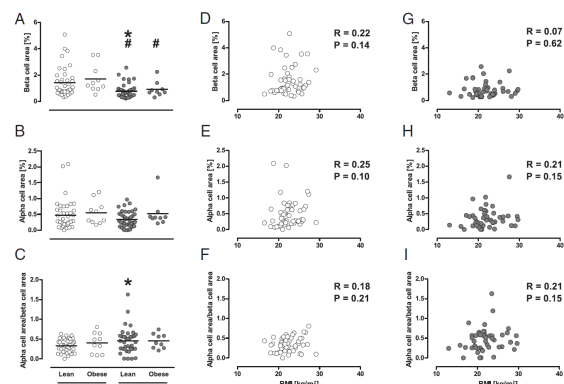
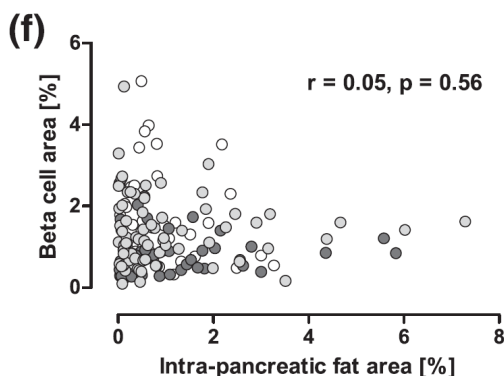


Figure 2. A, B and C. Effects of obesity on beta cell area (BCA), alpha cell area (ACA) and ACA to BCA ratio in cases with and without diabetes. Gray and white circles show cases with and without diabetes, respectively. Bars indicate mean. \* P < .05 vs. lean cases without diabetes. # P < .05 vs. obese cases without diabetes. D-I: Correlations between BMI and BCA, ACA or ACA to BCA ratio in cases with and without diabetes.

続いて、これらの患者および剖検例72例を加えた計171例の膵標本を用いて、細胞量に関わる因子についてさらなる検討を進めた。脂肪毒性として膵内脂肪の蓄積が細胞障害を引き起こし糖尿病の発症に寄与することが動物実験などで示されている。ヒトでの関与を調べるため、膵内脂肪量と細胞量との関連につき検討を行い、膵内脂肪の蓄積は細胞量や耐糖能と明らかな関連を認めなかったことを英文論文にて報告した (Murakami et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2017) (下図)。



したがってヒトでは膵脂肪蓄積の糖尿病発症への寄与は少ないものと考えられ、糖尿病発症前の細胞障害には他の因子が関わっている可能性が示唆された。また、現在細胞以外の内分泌細胞の変化や細胞の脱分化が糖尿病の発症に関与している可能性が動物実験にて示唆されており、ヒト膵組織を用いた他の内分泌細胞の肥満や糖尿病における変化についても検討を行い、結果はそれぞれ日本糖尿病学会(2016年5月京都、2017年5月名古屋)、欧州糖尿病学会(2016年9月ミュンヘン)および米国糖尿病学会(2017年6月サンディエゴ)にて発表を行った。

これらの成果をもとに我々は欧米人とアジア人での糖尿病の病態の違いが細胞量の違いにあるのではないかと提唱を行っている (Inaishi J and Saisho Y. *J Clin Med* 2017) (右上図)。今後さらなる検討によりヒト細胞量の生理的・病的変化やそれに関わる因子が解明されることで、2型糖尿病の新たな予防および治療戦略の確立に役立つものと考えている。

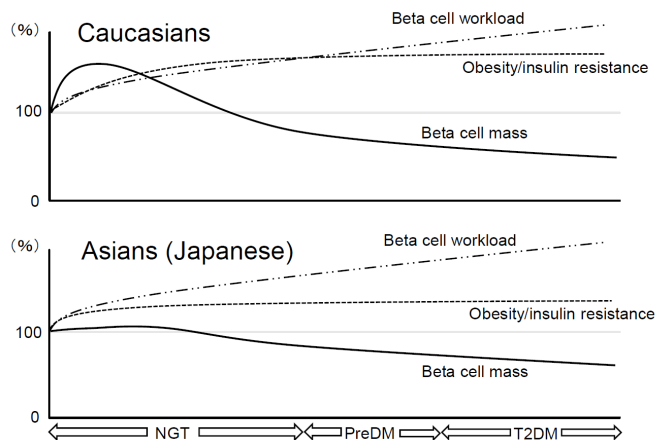


Figure 1. Hypothetical schema of different changes in beta cell mass in relation to obesity/insulin resistance and beta cell workload during the development of glucose intolerance in Caucasians and Asians (Japanese). NGT: normal glucose tolerance; PreDM: prediabetes; T2DM: type 2 diabetes. Beta cell mass increases to adapt to the increased demand in obese nondiabetic individuals in the Caucasian population, while beta cell mass expansion in the face of insulin resistance is extremely limited in Asians. Despite less obesity/insulin resistance, the limited increase in beta cell mass in Asians results in a similar increase in beta cell workload to that in Caucasians. Excess beta cell workload may eventually cause loss of beta cell mass. Once beta cell mass is reduced, beta cell workload will further increase, resulting in a vicious cycle. With progression to prediabetes and overt diabetes, progressive decline of beta cell mass underlies the disease.

## 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 5 件)

1. 税所芳史・膵・細胞容積・糖尿病：61：48-50，2018。(査読無し)
2. 税所芳史・2型糖尿病の発症メカニズム膵細胞 workload 仮説. *臨床化学*：46：157-9，2017。(査読無し)
3. Murakami, R.; Saisho, Y.; Watanabe, Y.; Inaishi, J.; Tsuchiya, T.; Kou, K.; Sato, S.; Kitago, M.; Kitagawa, Y.; Yamada, T., Itoh, H. Pancreas fat and beta cell mass in humans with and without diabetes: An analysis in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2017, 102, 3251-3260.(査読有り) DOI: 10.1210/jc.2017-00828
4. Inaishi, J.; Saisho, Y. Ethnic similarities and differences in the relationship between beta cell mass and diabetes. *Journal of Clinical Medicine* 2017, 6, 113. (査読有り) DOI: 10.3390/jcm61200113

5. Inaishi, J.; Saisho, Y.; Sato, S.; Kou, K.; Murakami, R.; Watanabe, Y.; Kitago, M.; Kitagawa, Y.; Yamada, T.; Itoh, H. Effects of obesity and diabetes on alpha- and beta-cell mass in surgically resected human pancreas. *J Clin Endocrinol Metab* **2016**, *101*, 2874-2882. ( 査 読 有 り ) DOI: 10.1210/jc.2016-1374

〔学会発表〕(計 12 件)

1. 渡辺雄祐、税所芳史、稲石淳、村上理恵、土屋多美、佐藤誠治、侯金成、北郷実、北川雄光、山田健人、伊藤裕 . 肥満、糖尿病におけるヒト膵・PP細胞量の変化についての検討 . 第 60 回日本糖尿病学会 . 2017 年 .
2. 村上理恵、税所芳史、稲石淳、渡辺雄祐、土屋多美、佐藤誠治、侯金成、山田健人、北郷実、北川雄光、伊藤裕 . ヒト膵脂肪含有量と・細胞量との関連についての検討 . 第 60 回日本糖尿病学会 . 2017 年 .
3. Murakami R, Saisho Y et al. Relationship between intra-pancreatic fat content and beta and alpha cell mass in humans with and without diabetes. 77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (ADA) (国際学会). 2017.
4. Watanabe Y, Saisho Y et al. Effects of obesity and diabetes on delta and pancreatic polypeptide cell mass and the relative change among islet endocrine cell mass in humans. 77th Scientific Sessions of the American Diabetes Association (ADA) (国際学会). 2017.
5. Murakami R, Saisho Y et al. Relationship between intra-pancreatic fat content and beta and alpha cell mass in humans with and without diabetes. 52<sup>nd</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. 2016.
6. 村上理恵、税所芳史他 . ヒト膵脂肪含有

量と・細胞量との関連についての検討 . 第 34 回日本肥満症治療学会学術集会 . 2016 年 .

7. 渡辺雄祐、税所芳史他 . 膵摘出例を用いた肥満、糖尿病でのヒト・細胞量の変化についての検討 . 第 34 回日本肥満症治療学会学術集会 . 2016 年 .
8. 村上理恵、税所芳史他 . ヒト膵脂肪含有量と・細胞量との関連についての検討 . 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 . 2016 年 .
9. 稲石淳、税所芳史他 . 肥満、糖尿病でのヒト・細胞量の変化についての検討 . 第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会 . 2016 年 .
10. Inaishi J, Saisho Y et al. Effects of obesity and diabetes on alpha and beta cell mass in surgically removed human pancreas. 51<sup>st</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes. 2015.
11. 稲石淳、税所芳史他 . 肥満、糖尿病でのヒト・細胞量の変化についての検討 . 第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会 . 2015 年 .
12. 稲石淳、税所芳史他 . 膵摘出症例における細胞量と糖代謝指標の関連についての検討 . 第 88 回日本内分泌学会年次学術集会 . 2015 年 .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

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〕

なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

税所 芳史 (SAISHO, Yoshifumi)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・講師  
研究者番号 : 90327510

### (3)連携研究者

山田 健人 (YAMADA, Taketo)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・講師 (非常勤)  
研究者番号 : 60230463

佐藤 誠治 (SATO, Seiji)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・助教  
研究者番号 : 90528762

稲石 淳 (INAISHI, Jun)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・助教  
研究者番号 : 60724565

村上 理恵 (MURAKAMI, Rie)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・助教  
研究者番号 : 40645719

北郷 実 (KITAGO, Minoru)  
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・講師  
研究者番号 : 70296599