

令和 5 年 6 月 29 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K08462

研究課題名(和文) 2型糖尿病疾患感受性遺伝子多型を基にした膵島病理学的変化と臨床経過、予後予測

研究課題名(英文) Pancreatic islet pathological changes, clinical course, and prognostic prediction based on type 2 diabetes susceptibility gene polymorphism

研究代表者

水上 浩哉 (Mizukami, Hiroki)

弘前大学・医学研究科・教授

研究者番号：00374819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：1. SNPs解析：弘前大学の剖検症例111症例(2型糖尿病症例を32症例、非2型糖尿病症例を79症例)を選択した。剖検時に採取した肝臓、腎臓組織からgenomic DNAを抽出した。DNAの品質を確認後、東芝にジャボニカアレー(東芝)にて、DNAのSNPsを網羅的に検討した。
2. 病理学的解析：膵島細胞/アミロイド容積、細胞動態の解析を行う。膵臓切片を用いて(1)膵島の各内分泌細胞容積、(2)膵島細胞の増生能、(3)膵島細胞死、(4)膵島細胞の新生能を検討した。既報と同様に、2型糖尿病で細胞容積の減少、細胞容積の増加、膵島新生の増加を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において剖検組織を用いて膵島の病理学的変化と遺伝学的変化を相関させる試みを行った。病理学的検索により、糖尿病検体では膵細胞容積の減少、分化転換の増加が認められた。遺伝子学的検索では、東芝のジャボニカアレーで100症例以上の剖検検体のSNPデータを得ることができた。これら病理学的データ、SNPデータは現在解析中であるが、病理学的変化との関連が得ることができれば、本邦における2型糖尿病の新たな病態の解明につながる可能性がある。さらに、遺伝子変化を標的とした新規治療も期待される。

研究成果の概要(英文)：1. SNPs analysis: 111 autopsy cases (32 type 2 diabetes cases, 79 non-type 2 diabetes cases) from Hirosaki University were selected. Genomic DNA was extracted from liver and kidney tissues collected at autopsy. After confirming the quality of the DNA, the Japonica array (Toshiba) comprehensively examined the SNPs of the DNA.
2. Pathological analysis: Pancreatic islet cell/amyloid volume and cell dynamics are analyzed. Using pancreatic slices, (1) each endocrine cell volume of pancreatic islets, (2) proliferation of islet cells, (3) islet cell death, and (4) pancreatic cell neogenesis were evaluated. Similar to previous reports, we found decreased β -cell volume, increased δ -cell volume, and increased islet neogenesis in type 2 diabetes.

研究分野：病理学

キーワード：2型糖尿病 膵臓 膵島 細胞 一塩基多型

1. 研究開始当初の背景

2型糖尿病(T2DM)の発症機序の一つに膵島細胞機能不全がある。特にグルコースに対する細胞のインスリン分泌の低下と細胞のグルカゴンの分泌抑制の欠如はT2DMの膵島機能不全の特徴である。その原因のひとつに膵島細胞容積の低下と細胞容積の増加がある。申請者はヒトT2DM剖検検体を用いて、T2DMが膵島病理にどのような変化を与えるか研究してきた。それに加え、ヒトT2DM膵島病理学的所見によってアミロイド沈着症例、高齢発症症例などT2DMはさらに亜分類できる可能性を見出してきた。現在、そのような膵島病理学的変化は高血糖を初めとする代謝的要因を中心に説明されている。つまり、T2DMの代謝障害から惹起される酸化ストレス、小胞体ストレス、オートファジー不全、炎症などにより細胞が傷害され、その容積が低下するとされている。しかしながら、T2DMの存在の有無に関わらずヒト膵島容積はその広い多様性をもっている。現在、T2DM以外の膵島容積を規定する因子としては、肝臓病の有無、非定型抗精神病薬の使用などが想定されているが、それ以外に遺伝的素因が挙げられる。

T2DMの病因は疾患感受性遺伝子の遺伝子多型(SNPs)などの遺伝的素因に代謝的要因が加わることによると説明されている。欧米人では疾患感受性遺伝子の一つであるTCF7L2のSNPsにより糖尿病発症以前から膵島内の細胞割合の減少、細胞割合の増加が報告されている(Le Bacquer O, Diabetologia. 2012)。日本人においてはKCNQ2のSNPsがT2DMの発症に関与していることが知られている。KCNQ2は実験的に細胞容積の制御に関与していることが報告されている(Asahara S, Proc Natl Acad Sci U S A. 2015)。しかしながら、ヒトにおけるT2DM疾患感受性遺伝子の膵島病理学的変化への影響についての検討は多くない。その理由として、T2DM疾患感受性のSNPsの多さと各SNPsのT2DM発症に対する影響力の低さがある。現在T2DM疾患感受性SNPsは100以上報告されている。しかしながら、それぞれのT2DM発症のオッズ比は高くても2倍以下である。このことはもし、SNPsが膵島病理学的変化に関与するならば、単一のSNPというより複数のSNPが複合的に関与している可能性を示唆している。しかしながら、これまでの研究で日本人を用いてT2DM疾患感受性のSNPsと膵島病理学的変化を検討した研究はない。

2. 研究の目的

T2DMの膵島病変におけるSNPsの役割の解明、バイオマーカーとしての確立を図る。今回の研究ではT2DM疾患感受性SNPsを網羅的に解析し、SNPsとヒト膵島病理学的変化の関係を明らかにする。1.非T2DM症例ではSNPsによる膵島病理学的変化を基にした将来のT2DM発症危険度予測を試みる。2.T2DM症例ではSNPsによる膵島病理学的変化を明らかにし、それを利用した病態の解明及び治療法の選択、膵島病理学的変化の予測、SNPsに即した新規治療法の確立をめざす。

3. 研究の方法

(1) 剖検症例の選択(標本の収集、選別)

非T2DM症例の検討(20-40歳)

79症例の非T2DM症例を検討した。T2DMの家族歴は多くの症例で不明であった。

T2DM症例の検討

32症例のT2DM症例を評価した。

(2) 病理学的解析 (膵島細胞/アミロイド容積、細胞動態)

膵臓切片を用いて 膵島の各内分泌細胞容積、膵島細胞の増生能、膵島細胞死、膵島細胞の新生能、膵島細胞の分化転換及び 脱分化を検討した。

(3) SNPs 解析

剖検採取された臓器 (肝臓、腎臓) から DNA を抽出した。DNA の品質を評価後、ジャポニカアレー (東芝) にて、111 症例の DNA の SNPs を網羅的に検討した。

(4) 統計的解析 (臨床データ、膵島病理学的変化、SNPs の相関)

臨床データ (BMI、血圧、血液生化学、末梢血、T2DM 症例については糖尿病期間、HbA1c 値、治療の有無及び種類、C-ペプチド)、SNPs の存在、病理学的パラメーターとの相関を統計的に検討する。

4. 研究成果

剖検検体数を十分量確保するのに時間がかかり、結果として5年を必要とした。現在解析が終わっている検体において、これまでの報告と同様に、剖検検体における膵島病理変化の検討から、日本人における膵島 細胞容積の低下と 細胞容積の増加が確認された。ヒト標本においても、分化転換マーカーである ALDH1A3 の発現が T2DM において亢進していることが確認された。また、血糖の変化にかかわらず T2DM において 細胞容積は広い多様性をもっていることが解明された。つまり、この結果からは T2DM 細胞量は血糖因子以外にも規定される可能性を示唆している。

得られた資料から抽出された DNA をジャポニカアレーによって SNPs を網羅的に解析した。全例において SNPs のデータは得られている。

現在、病理学的データの解析がすべて終了していないため、SNPs のデータとの相関は得られていない。これまで、マニュアルで 細胞容積を解析してきたが、現在解析プログラムの開発により PC 上で自動解析にかけているため、解析しなおしているためしばらく時間が必要である。解析終了次第、SNPs と GWAS で相関を見る予定である。遺伝因子による膵島病理学的変化を検討することにより T2DM の新たな病態解明、治療法の確立のみならず、T2DM 膵島病理学的病変の予測バイオマーカーとしての SNPs の可能性をさらに探索する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 akahashi K, Mizukami H, Osonoi S, Takeuchi Y, Kudoh K, Sasaki T, Daimon M, Yagihashi S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Islet microangiopathy and augmented β -cell loss in Japanese non-obese type2 diabetes patients who died of acute myocardial infarction.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Diabetes Investig.	6. 最初と最後の頁 2149-2161.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13601.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hara A, Nakagawa Y, Nakao K, Tamaki M, Ikemoto T, Shimada M, Matsuhisa M, Mizukami H, Maruyama N, Watada H, Fujitani Y.	4. 巻 66(5)
2. 論文標題 Development of monoclonal mouse antibodies that specifically recognize pancreatic polypeptide.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocr J.	6. 最初と最後の頁 459-468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ18-0441.	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10件（うち招待講演 3件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 水上浩哉
2. 発表標題 臨床医が知っておくべき糖尿病の基礎 5 膵内分泌細胞の可塑性と2型糖尿病
3. 学会等名 第55回 糖尿病学の進歩（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水上浩哉
2. 発表標題 SD10-2 糖尿病の病態解析の進展
3. 学会等名 第110回 日本病理学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sho Osonoi, Takanori Sasaki, Kazuhiro Kudo, Soroku Yagihashi, Hiroki Mizukami
2. 発表標題 Possible Implication of Cyclin D2 in Cell Proliferation of Human Perinatal Islet
3. 学会等名 80th american diabetes association scientific sessions (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水上浩哉、高橋和久、遅野井祥、郭丹やん、工藤和洋、板橋智映子、八木橋操六
2. 発表標題 急性心筋梗塞合併2型糖尿病は膵島病理学的所見により亜分類される
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井仁、遅野井祥、高橋和久、工藤和洋、板橋智映子、八木橋操六、水上浩哉
2. 発表標題 膵島アミロイド沈着と低酸素関連分子の発現について
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水上浩哉、高橋和久、遅野井祥、工藤和洋、板橋智映子、八木橋操六
2. 発表標題 新しい2型糖尿病亜分類の膵島病理学的所見に基づく検証
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroki Mizukami
2. 発表標題 Islet cell plasticity and its significance in diabetes Plasticity of human beta cells in type 2 diabetes of Japanese subjects
3. 学会等名 American Diabetes Association The 79th Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroki Mizukami, Kazuhisa Takahashi, Tetsuyuki Tateda, Wataru Inaba, Soroku Yagihashi
2. 発表標題 Augmented b-Cell Loss in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Complicated with Acute Myocardial Infarction
3. 学会等名 American Diabetes association 78th Scientific Sessions
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroki Mizukami
2. 発表標題 Symposium 2 How far have we learned the role of glucagon? Pathological alteration of alpha and beta cells in human type 2 diabetes
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水上浩哉
2. 発表標題 2型糖尿病を病理学的に研究する
3. 学会等名 第80回 病理診断学講座 Seminar in Diagnostic Pathology
4. 発表年 2018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
---------	---------