

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08488

研究課題名（和文）ヒト膵 細胞量の調節機構および糖代謝との関連についての包括的検討

研究課題名（英文）Regulatory mechanisms of human beta cell mass and its association with glucose tolerance

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） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：我々は、剖検例および膵手術症例の膵組織を用いた組織学的検討により、日本人では、1) 2型糖尿病を発症する以前の、耐糖能異常の段階からすでに細胞の減少を認めること、また2) 出生体重と成人の細胞量は正に相関することを認め、このことから低出生体重児が将来糖尿病発症のリスクが高いことの機序の一つとして、細胞量の減少が関与している可能性を報告し、ヒトでの細胞量の生理的・病的意義の一端を明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2型糖尿病は世界中で増加の一途をたどっており、その予防および新たな治療法の開発は喫緊の課題である。我々は、2型糖尿病患者における細胞量の減少を報告し、糖尿病の予防や治療における「細胞保護」の重要性を提唱してきた。本検討では糖尿病を発症する以前の「糖尿病予備群」の段階においてすでに細胞量は減少し始めていることを明らかとし、より早期からの「細胞保護」を目指した治療介入が糖尿病発症予防に重要であることを示した。また、出生体重が細胞量と関連することを明らかとし、将来の糖尿病発症予防の観点から低出生体重を回避する重要性を示した。

研究成果の概要（英文）：Using histological analysis of human pancreas obtained from autopsy or pancreatic surgery, we found that in Japanese, 1) beta cell mass is already reduced in individuals with prediabetes before the onset of type 2 diabetes, and 2) birthweight is positively associated with beta cell mass in adults, indicating the possibility that reduced beta cell mass in individuals born with low birthweight increases a risk of developing type 2 diabetes in adulthood.

研究分野：内分泌代謝

キーワード：細胞量 2型糖尿病 耐糖能異常 細胞機能 細胞量 組織学的検討

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者は世界中で増加の一途を辿っている。現在世界で4億2千万人と推定される糖尿病患者数は2040年には6億4千万人に増加すると推定されている。1921年のインスリンの発見に始まり、現在までの間に数多くの抗糖尿病薬が発見・開発され、糖尿病治療は格段に進歩している。しかしながら、現在においても1型、2型いずれの糖尿病も根治することはできない。また、国連は2006年に糖尿病の撲滅を決議し、以後世界中で糖尿病の予防に対して多くの努力がなされているにもかかわらず、糖尿病患者は増加しているのが現状であり、未だ糖尿病の有効な根治治療や予防法は明らかとなっていない。新たな治療・予防法の開発のためには糖尿病の病態に対するさらなる理解が必要である。

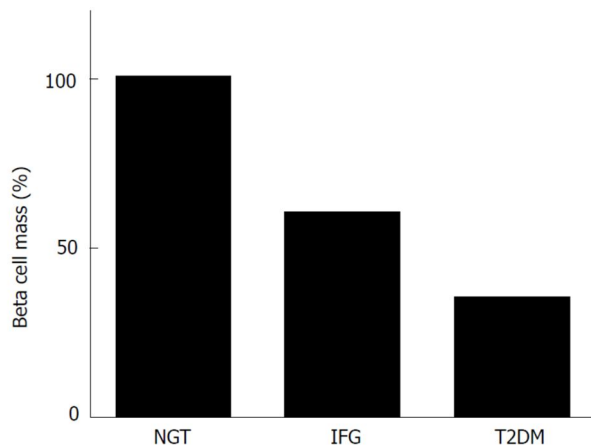


図1 空腹時高血糖 (IFG) 2型糖尿病患者 (T2DM) における膵細胞量の減少。NGT: 正常耐糖能者

糖尿病は大きく1型、2型糖尿病に分類されるが、1型糖尿病が主に自己免疫により細胞が破壊され、細胞量の減少とインスリン分泌の低下・枯渇を特徴とするのに対し、2型糖尿病はインスリン分泌不全とインスリン抵抗性を特徴とする。2型糖尿病では肥満、インスリン抵抗性およびそれに伴う高インスリン血症を認めることから、細胞障害についてはこれまであまり注目されてこなかった。また、膵細胞量は非侵襲的に測定ができないことから、その病態について多くのことが不明であ

った。しかしながら近年、Butler教授らの報告をはじめ、ヒト剖検膵組織を用いた組織学的検討により、2型糖尿病患者においても肥満の有無に関わらず膵細胞量は50~65%減少していることが報告された (Butler AE et al. Diabetes 2003、図1)。これらの報告により今日、膵細胞量の減少は1型、2型糖尿病に共通した病態であり、膵細胞障害が糖尿病の本態であることが分かってきた (Saisho Y. World J Diabetes 2015)。つまりこのことは膵細胞量の回復が、1型、2型糖尿病の両者に対する根治療法となり得ることを示している。

したがって、ヒト膵細胞量の生理的・病的変化を検討し、細胞量の調節機構を明らかにすることができれば、糖尿病の根治療法の開発につながる可能性がある。

2. 研究の目的

本検討の目的は、ヒト膵組織を用いて、様々な生理的・病的条件下における膵内分泌・外分泌組織の組織学的変化を検討することで、膵細胞量の調節機構および調節能、そしてそれに関わる因子を明らかにし、糖尿病の新たな治療戦略の提言を行うことである。

ヒト膵組織を用いた組織学的検討を行っているグループは世界的にも多くなく、わが国においてはさらに少ない。本研究申請者は米国UCLA Butler教授のもとに留学し、米国白人における膵細胞量の肥満・加齢に伴う変化について検討、報告を行ってきた (Meier JJ et al. Diabetes 2008, Saisho Y et al. Diabetes Care 2013)。現在我々は病理学教室や外科学教室との協力により、これまでに200例を超える剖検症例、外科膵摘出術施行症例のコホートを確立してきた。これらの豊富な試料を用いて、より正確かつ統計学的検出力を有する研究を遂行することができる。

また、これまでの我々の経験を活かし、九州大学 二宮利治教授との共同研究にて福岡県久山

町コホートでの剖検例を用いた検討を行った。これら多方面からの検討を用いて総合的な判断を行うことで、剖検例や手術例に伴う死因や現病をはじめとする様々な交絡因子の影響をできる限り排除し、真に重要な知見を得ることができる。

3. 研究の方法

これまでに我々の研究チームは、日本人剖検例での検討により、日本人肥満者における膵細胞量の生理的变化を報告した (Kou K et al. J Clin Endocrinol Metab 2013)。欧米人では肥満者では細胞量が約 50% 増加しているのに対し、日本人では肥満者での細胞量の増加を認めなかった。本検討は世界で初めて膵細胞量の生理的变化が人種によって異なる可能性を示したものであり、細胞調節能の違いが人種による糖尿病の病態の違いにつながっている可能性を示唆した重要な知見として高く評価されている (Arakaki RF. J Clin Endocrinol Metab 2013, Imura H. Proc Jpn Acad Ser B 2013, Yagihashi S et al. J Diabetes Investig 2016)。

またさらに我々は生前のステロイド投与によるインスリン抵抗性存在下においても、日本人では細胞量の増加を認めなかったこと、一方でステロイド糖尿病の患者では細胞量の減少は認めず、ステロイド糖尿病は 1 型、2 型糖尿病とは異なる病態を示すことを報告した (Sato S et al. Diabetes 2015)。さらに膵摘出術施行症例においても肥満と細胞量との間に有意な相関を認めないこと、一方 2 型糖尿病では肥満の有無に関わらず細胞量は 45% 減少していることを確認し、報告した (Inaishi J et al. J Clin Endocrinol Metab 2016、図 2)。

さらに組織学的検討から我々は膵島のサイズよりも膵島の数がヒトでの細胞量を大きく規定していることを明らかとし、膵島数(密度)を規定する因子の解明がヒトでのより効率的な細胞再生につながる可能性を示した (Kou K et al. J Clin Endocrinol Metab 2014)。さらに膵細胞障害を起こす因子として、膵への異所性脂肪蓄積が一因とされているが、我々は膵内脂肪蓄積と細胞量との間には関連を認めず、その関与はヒトでは少ない可能性を示した (Murakami R et al. J Clin Endocrinol Metab 2017)。これまでの研究結果をもとに我々は膵細胞 workload 仮説として、糖尿病発症前から機能的細胞量の低下が起こっている可能性を提唱している (Saisho Y. Medical Research Archives 2016)。

本研究期間では、さらにこれまでの組織学的検討を継続、発展させることで、

- 膵細胞量とその他の内分泌細胞量(細胞、PP細胞、細胞、細胞)との関連および他の内分泌細胞量の肥満や糖尿病での生理的・病的変化を明らかにし、近年動物実験で示された細胞のde-differentiation/trans-differentiationのヒトでの意義を明らかとする。
- 膵細胞量と血管密度、アミロイド蓄積との関連について検討し、これらの因子が細胞量に与える影響について明らかとする。
- 膵炎、膵癌など外分泌腺の変化による細胞量への影響を検討することで、膵内分泌 外分泌連関の存在を明らかとする。
- 正常耐糖能肥満者における膵細胞障害の存在の有無およびその機序について、細胞特

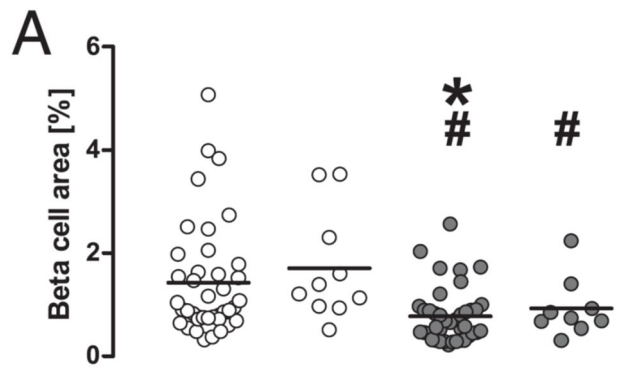


図 2 日本人 2 型糖尿病患者における膵細胞量の減少。左から非糖尿病非肥満、非糖尿病肥満、糖尿病非肥満、糖尿病肥満症例

異的転写因子 (PDX-1, Maf-a) 酸化ストレスマーカー、ERストレスマーカー、オートファジーマーカーなどを用いて検討する。

- CD26/DPP-4の膵島での発現について、肥満や糖尿病における変化を検討し、膵島でのCD26/DPP-4発現の糖尿病発症、進展における病態的意義について明らかとする。
- その他動物実験などで明らかとなった膵細胞増殖因子などの存在についてもヒト組織での検討を行いヒト糖尿病の病態での意義について明らかとする。

ことを予定している。本研究結果はそのままヒト臨床への応用が可能であり、大変重要な知見となることが期待される。

4. 研究成果

九州大学との共同研究として、久山町研究の剖検コホートにおける耐糖能とβ細胞量の関連について検討した。2002年から2016年に剖検を施行された久山町研究の一般集団のうち、死亡の5年以内に75g糖負荷試験(OGTT)を施行された103名を抽出した(正常耐糖能(NGT)40名、耐糖能異常(prediabetes, PDM))31名、2型糖尿病(T2DM)32名)。膵組織よりβ細胞面積を測定し、耐糖能との関連につき線形回帰分析を用いて検討した。

その結果、β細胞面積は耐糖能の悪化に伴い、有意に減少した($1.85 \pm 0.10\%$, $1.59 \pm 0.11\%$, $1.17 \pm 0.1\%$, P for trend < 0.001)。一方で、α細胞面積については耐糖能との間に有意な関連を認めなかった。α細胞量は75g-OGTTの空腹時血糖および2時間血糖値、およびHbA1cと有意な負の相関を認め、α細胞機能の指標であるdisposition index(DI)と有意な正の相関を認めた(Inaishi J et al. J Diabetes Investig 2020, 下図: Figures 1 and 2)。

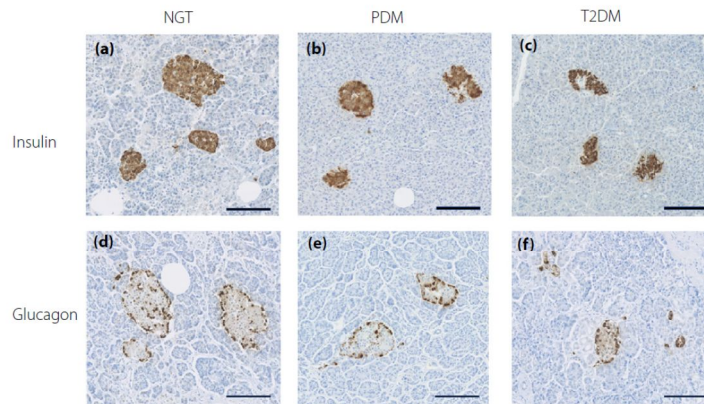


Figure 1 | Representative photomicrographs of the pancreas immunostained for (a-c) insulin (a) in normal glucose tolerance (NGT), (b) in prediabetes (PDM) and (c) in type 2 diabetes mellitus (T2DM) or (d-f) glucagon (d) in NGT, (e) in PDM and (f) in type 2 diabetes mellitus with hematoxylin in each glucose tolerance status. Scale bar, 200 μ m.

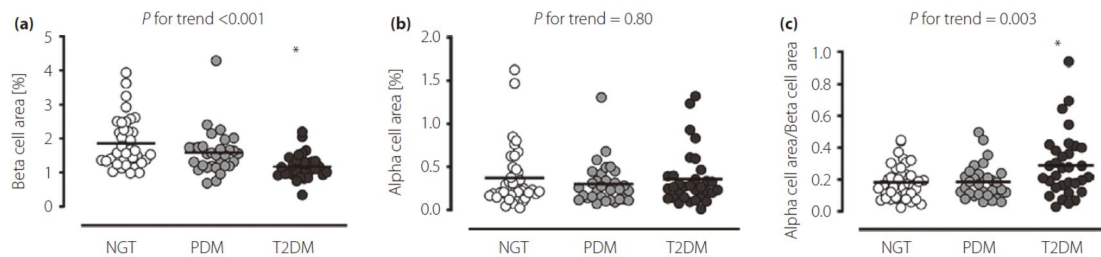
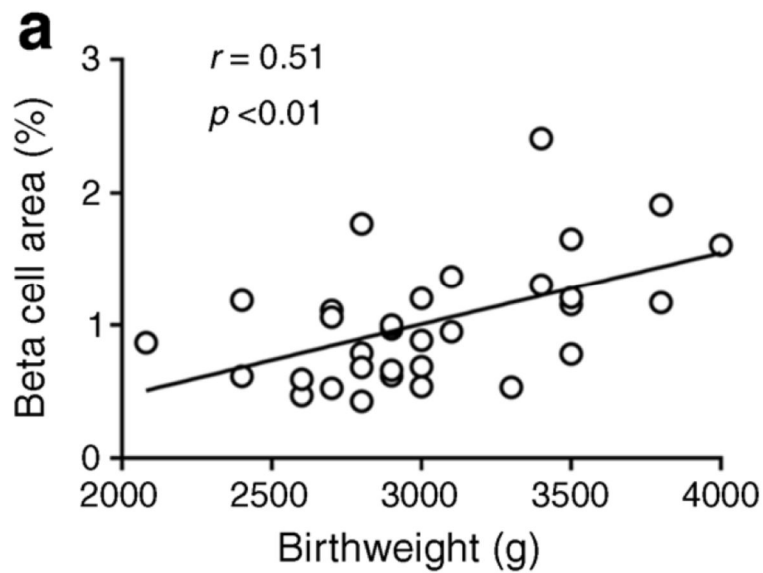


Figure 2 | Comparisons of (a) β -cell area, (b) α -cell area and (c) the ratio of the α -cell area to β -cell area among the individuals with different glucose tolerance status. NGT, normal glucose tolerance; PDM, prediabetes; T2DM, type 2 diabetes mellitus. * $P < 0.05$ vs NGT.

また、当院で膵手術を行った患者において、出生体重とβ細胞量との関連について検討した。当院で膵摘出術を行った成人患者で、出生体重についての情報が得られた64名(NDM 38例、T2DM 26例)を対象とした。膵組織を用いてβ細胞面積および膵島形態(サイズ、密度)、細胞複製能(Ki67染色)などを測定し、出生体重との関連を検討した。

その結果、NDMグループにおいて、出生体重とβ細胞面積との間に有意な正の相関を認めた($r = 0.34$, $p = 0.03$)。DMグループでは有意な相関を認めなかった。さらに我々はNDMグループにおいて、小児期の肥満を有した患者では、そうでない患者に比べてβ細胞量が有意に高値であることを見出した(1.78 ± 0.74 vs $0.99 \pm 0.53\%$, $p = 0.01$)。そこで小児期肥満の既往のある患者を除いたところ、NDMグループにける出生体重とβ細胞面積の相関はより強いものになった。

($r = 0.51$, $p < 0.01$, 下図)(Sasaki H et al. Diabetologia 2020)



これらの結果は、我々日本人では、1) 2型糖尿病を発症する以前の、耐糖能異常の段階からすでに細胞の減少を認めること、2) 出生体重と細胞量は相関し、低出生体重児が将来糖尿病発症のリスクが高いことの機序の一つとして、細胞量の減少が関与している可能性を示唆するものであり、ヒトでの細胞量の生理的・病的意義の一端を明らかとした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Inaishi Jun, Saisho Yoshifumi, Hirakawa Yoichiro, Yoshida Daigo, Hata Jun, Mukai Naoko, Watanabe Yuusuke, Oda Yoshinao, Itoh Hiroshi, Ninomiya Toshiharu	4. 巻 -
2. 論文標題 Association of glucose tolerance status with pancreatic and cell mass in community based autopsy samples of Japanese individuals: The Hisayama Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Diabetes Investigation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdi.13232	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 Sasaki H, Saisho Y, Inaishi J, Watanabe Y, Tsuchiya T, Makio M, Sato M, Kitago M, Yamada T, Itoh H	4. 巻 -
2. 論文標題 Associations of birthweight and history of childhood obesity with beta cell mass in Japanese adults	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetologia	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00125-020-05127-2	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 Yoshifumi Saisho	4. 巻 -
2. 論文標題 Comprehensive study on human pancreatic beta-cell regulatory mechanism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Impact	6. 最初と最後の頁 38-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21820/23987073.2019.2.38	査読の有無 無
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 該当する
1. 著者名 Yoshifumi Saisho	4. 巻 19
2. 論文標題 Changing the Concept of Type 2 Diabetes: Beta Cell Workload Hypothesis Revisited	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets	6. 最初と最後の頁 121-127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/1871530318666180821161825	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 該当する

1. 著者名 Yoshifumi Saisho	4. 巻 6
2. 論文標題 How can we develop more effective strategies for type 2 diabetes mellitus prevention? A paradigm shift from a glucose-centric to a beta cell-centric concept of diabetes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 European Medical Journal Diabetes	6. 最初と最後の頁 46-52
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

1. 著者名 Saisho Yoshifumi	4. 巻 21
2. 論文標題 An emerging new concept for the management of type 2 diabetes with a paradigm shift from the glucose-centric to beta cell-centric concept of diabetes - an Asian perspective	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 1565 ~ 1578
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14656566.2020.1776262	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 Inaishi Jun, Saisho Yoshifumi	4. 巻 12
2. 論文標題 Beta-Cell Mass in Obesity and Type 2 Diabetes, and Its Relation to Pancreas Fat: A Mini-Review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 3846 ~ 3846
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12123846	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 Yoshifumi Saisho	4. 巻 -
2. 論文標題 A focus on beta cell mass could help prevent type 2 diabetes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Research Outreach	6. 最初と最後の頁 119-119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.32907/R0-119-5053	査読の有無 無
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 該当する

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐々木裕伸, 税所芳史, 稲石淳, 渡辺雄祐, 土屋多美, 牧尾将幹, 佐藤翠, 北郷実, 北川雄光, 山田健人, 伊藤裕
2. 発表標題 ヒト膵摘出症例における出生体重と 細胞量の関係についての検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Inaishi J, Saisho Y, Mukai N, Hirakawa Y, Yoshida D, Hata J, Watanabe Y, Oda Y, Itoh H, Ninomiya T
2. 発表標題 Glucose tolerance status and beta and alpha cell mass in community-based autopsy samples of Japanese: the Hisayama study
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe Y, Saisho Y, Inaishi J, Murakami R, Tsuchiya T, Sasaki H, Makio M, Kitago M, Kitagawa Y, Yamada T, Itoh H
2. 発表標題 Effects of obesity and diabetes on pancreatic endocrine cell mass and the relative change in humans
3. 学会等名 55th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺雄祐, 税所芳史, 稲石淳, 村上理恵, 土屋多美, 佐々木裕伸, 牧尾将幹, 北郷実, 北川雄光, 山田健人, 伊藤裕
2. 発表標題 肥満, 糖尿病におけるヒト膵内分泌細胞量の変化についての検討
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 稲石淳, 税所芳史, 向井直子, 平川洋一郎, 吉田大悟, 秦淳, 渡辺雄祐, 小田義直, 伊藤裕, 二宮利治
2. 発表標題 久山町剖検例における糖代謝関連因子および遺伝的背景と 細胞量との関連
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 稲石淳, 税所芳史, 向井直子, 平川洋一郎, 吉田大悟, 秦淳, 渡辺雄祐, 小田義直, 伊藤裕, 二宮利治
2. 発表標題 日本人での耐糖能と 細胞機能および膵組織学的特徴との関連についての検討
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 稲石淳, 税所芳史, 向井直子, 平川洋一郎, 吉田大悟, 秦淳, 渡辺雄祐, 小田義直, 伊藤裕, 二宮利治
2. 発表標題 久山町剖検例における糖代謝関連因子と 細胞量との関連
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 渡辺雄祐, 税所芳史, 稲石淳, 村上理恵, 土屋多美, 佐々木裕伸, 北郷実, 北川雄光, 山田健人, 伊藤裕
2. 発表標題 肥満、糖尿病におけるヒト膵内分泌細胞量の変化についての検討
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

〔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
---------	---------