

令和 2 年 5 月 18 日現在

機関番号：22701  
研究種目：若手研究  
研究期間：2018～2019  
課題番号：18K16240  
研究課題名(和文) 膵島の不均一性に基づく膵島機能制御機構の解析

研究課題名(英文) Heterogeneity of pancreatic islets

研究代表者

白川 純 (Shirakawa, Jun)

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：70625532

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵細胞などにより構成されている膵島には、インスリン分泌能や膵細胞増殖能の異なる複数のサブタイプが存在し、それらが膵臓内の解剖学的な空間的位置により規定されていることを見出した。さらに、空間的位置に伴う膵島の不均一性(ヘテロジェネイティー)を、構造、機能、増殖・分化転換・生存等の可塑性の観点から解析し、その分子機構が明らかになりつつある。これより、各膵島のサブタイプの病態における特性を解析することが可能となり、特定の膵島サブタイプを標的とした、効率的な機能的膵細胞量の維持ならびに増加の達成に向けた糖尿病治療研究へと展開できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、膵細胞の不均一性を越えて、膵島での不均一性の存在と、それらの分子機構が明らかになり、新規に分類された膵島を対象とした膵細胞機能不全のメカニズム解明が可能となる。さらにこれらの研究成果をヒトに応用していくことにより、目的とする機能的特性をもつ膵島のみを単離し、膵島のサブタイプに特化した膵島移植の実施や、iPS細胞等の幹細胞から、機能的膵細胞量の回復に最適な機能的特性を有する膵島サブタイプの創出への発展が期待される。

研究成果の概要(英文)：Recent studies showed subpopulation of pancreatic cells in the context of functional and phenotypic heterogeneity. Distinct cell subpopulations potentially have unique functional identity. We topologically divided pancreas into a head (right side, nestled in the curve of the duodenum), body, and tail (left side in close proximity with the spleen) region in mice. Then, we compared head islets with tail islets histologically and functionally. Tail islets contained significantly higher proportion of  $\beta$ -cells. Glucose-stimulated insulin secretion was significantly greater in tail islets than in head islets, while  $\alpha$  cells in head islets showed higher response to GLP-1. The results of gene expression microarray analysis and proteomics analysis indicated that some functional genes including pancreatic progenitor markers were differentially expressed between head and tail islets. Thus, pancreatic islets harbor functional diversity in terms of various aspects of cell function.

研究分野：糖尿病内科学

キーワード：糖尿病 膵細胞量 膵島 不均一性 分化転換 脱分化

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵β細胞の機能および量の低下が、2型糖尿病の発症・進展の原因の1つであり、膵β細胞の機能と量の総和である機能的膵β細胞量を増やすことが糖尿病治療につながる。そのため、膵β細胞を含む膵ランゲルハンス島（以下膵島）は、糖尿病研究において重要な役割を果たしている。

### 2. 研究の目的

マウス単離膵島の機能解析および膵臓の組織学的解析により、マウス膵臓において、膵島も、解剖学的な空間的位置により規定される不均一性を有することを想定し、膵島の不均一性の機序およびその意義の解明を目的とする。

### 3. 研究の方法

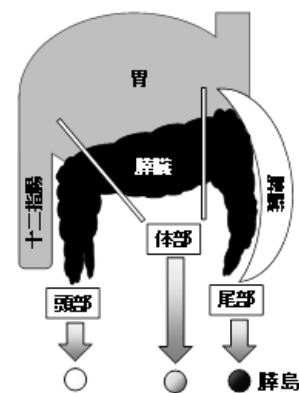
これまで均一なものとして膵臓全体から単離され解析されてきた膵島は、不均一な集団により構成されているということに着目し、それらの表現型および分子基盤を解明する。さらには糖尿病発症・進展過程における膵島のサブタイプ毎の特性を解析し、病態および治療の観点から、膵島の不均一性の意義を探る。

### 4. 研究成果

#### <1> 膵島のサブタイプの同定

マウスの膵臓を十二指腸附着部の頭部、脾臓附着部の尾部、中心部の体部の3つの領域にそれぞれが均一の重量になるように分類し、別々に、頭部、体部、尾部の3領域の膵島単離をそれぞれ施行した。また、マウスの全身臓器を心臓から灌流固定した後に、生体内の解剖学的位置が保たれた状態で膵全体を周辺臓器とともに摘出し、十二指腸附着部、脾臓附着部、体部の3領域を上記と同じ位置で分類し、組織学的な解析を行った。

以上の解析により、マウスにおいて膵島は均一な集団ではなく、形態的にも、さらにインスリン分泌能や膵β細胞増殖能においても不均一であり、それらは膵臓の解剖学的な空間的位置により規定されていることを見出した(図1)。



#### <2> 空間的差異による膵島の構造ならびに機能の特性の解明

膵臓の頭部と尾部の組織を比較したところ、通常食および代償性の膵β細胞増殖を認める高脂肪食負荷マウスの両者において、尾部の膵島では頭部の膵島に比べて膵α細胞の割合が3倍程度に有意に増加していることを見出した(図2)。頭部、体部、尾部において、δ細胞やPP細胞等の割合も異なることを見出した。

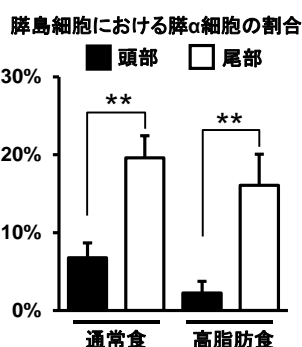


図2 膵島の空間的位置による形態(左)

通常食および高脂肪食(12週)負荷マウスの膵臓頭部および尾部の膵島細胞における膵α細胞の割合。

通常食マウスならびに高脂肪食マウスの両者で、膵島のインスリン含量は変化しないものの、尾部の膵島では有意にグルコース応答性インスリン分泌能が増加していた(図3)。今後、その他のインスリン分泌促進因子である、アルギニンやカリウム、グルコキナーゼ活性化薬、インクレチン等への膵島のサブタイプによる反応の違いを明らかにしていく。現在、グルコース応答性とインクレチンによるインスリン分泌促進能は、頭部と尾部の膵島のサブタイプにより異なる反応性を示すことが明らかになりつつあり、頭部由来の膵島は、グルコース応答性は低いものの、

インクレチンの感受性は高い結果が得られている。

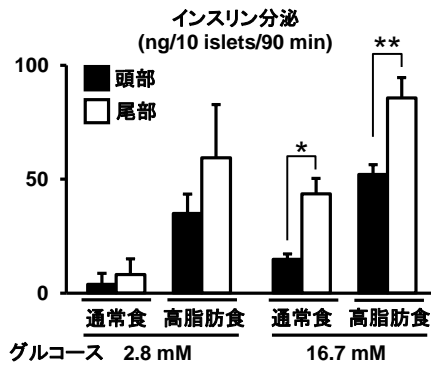


図3 膵島分布によるインスリン分泌 (右)  
通常食および高脂肪食 (12 週) 負荷マウスの膵臓頭部および尾部の膵島におけるグルコース応答性インスリン分泌。

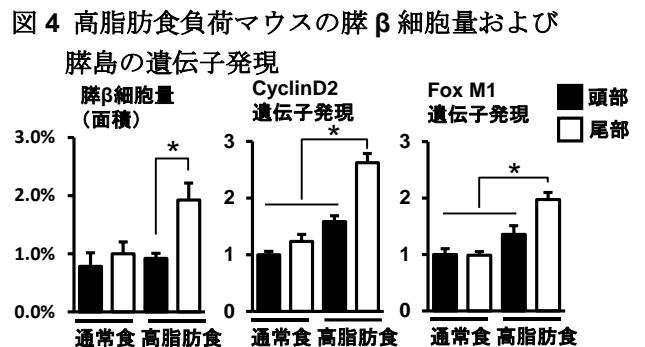
また、グルコキナーゼ活性化薬 (GKA) による膵β細胞増殖は尾部の膵島で高く、GLP-1 受容体作動薬であるリラグルチドによる膵β細胞増殖は頭部の膵島で高いことも見出した。さらに頭部、体部、尾部の膵島における膵β細胞増殖能を、特にヒト膵β細胞で効果が示されている DYRK1A 阻害薬でも差があることを明らかにした。

### <2> 膵島の不均一性を規定する遺伝子群の同定

膵島機能の不均一性に関する分子基盤を明らかにすべく、遺伝子発現解析を行った。同一マウスから採取した頭部および尾部の膵島を用いて、遺伝子発現マイクロアレイおよびプロテオミクス解析を施行し、尾部膵島で有意に発現上昇および発現低下する分子群を同定した。現在これらの遺伝子群の検証を行っており、非常に再現性の良い結果を得ている。興味深い事にインスリン分泌能や細胞増殖能に関与する分子に加えて、発生や分化・脱分化に関与する分子群の発現も頭部と尾部で有意な差を認めた。現在、タモキシフェン誘導性に膵β細胞特異的 (Ins1-Cre) に ROSA26 プロモーター下で安定的に GFP を発現する、膵β細胞トレーサーマウスを用いて、GFP 陽性の膵β細胞が、非膵β細胞へ分化転換する際の膵島における不均一性を解析している。

### <3> 糖尿病の病態形成ならびに治療過程における膵島の不均一性の検証

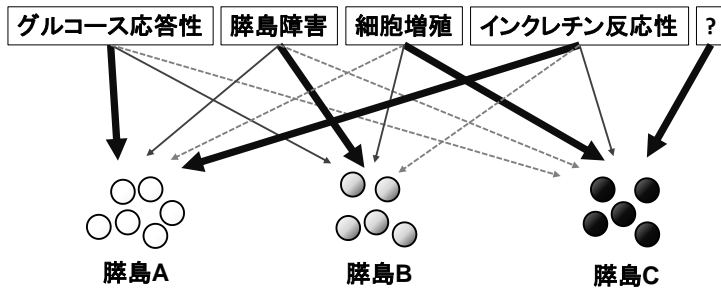
膵島のサブタイプが糖尿病に伴う膵β細胞の代償ならびに障害・治療反応性の過程における挙動を解析した。代償性の膵β細胞増殖を認める高脂肪食負荷マウスにおいては、尾部の膵島が特異的に膵β細胞増殖を示し、CyclinD2 や FoxM1 等の遺伝子発現上昇も尾部の膵島特異的であった (図4)。また、膵β細胞特異的グルコキナーゼ欠損マウスおよび IRS-2 欠損マウス等の糖尿病モデルマウスでは、尾部の膵島特異的に膵β細胞量および増殖の有意な低下を認めることを見出し、尾部膵島特異的な膵β細胞量の制御機構の存在が示唆された。



### <4> ヒト膵島へのトランスレーショナルリサーチ

遺伝子発現解析の結果から得られたマウス膵島サブタイプに特異的な候補分子の発現をヒト膵島において解析した。さらに培養ヒト膵島を用いて、単一の膵島におけるインスリン分泌能および膵β細胞増殖能と膵島サブタイプ特異的分子の発現の相関を検討した。その結果、ヒト膵島でも不均一性が存在する可能性が示唆された。

以上の結果より、これまで均一なものとして膵臓全体から単離され解析されてきた膵島は、不均一な集団により構成されているということがあきらかとなった。これらの表現型および分子基盤を解明が、糖尿病発症・進展過程における膵島のサブタイプ毎の特性に応じた治療法開発につながる（図5）。



**図5 膵島のサブタイプによる特性の解明**

膵島の空間的位置により分類されたサブタイプによるインスリン分泌能や細胞増殖能、薬剤感受性や病態における反応性の差異、さらに膵島のサブタイプ毎の遺伝子発現変化や発生過程における不均一性の発生過程が明らかになりつつある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Jungtrakoon Prapaporn, Shirakawa Jun, Buranasupkajorn Patinut, Gupta Manoj K., De Jesus Dario F., Pezzolesi Marcus G., Panya Aussara, Hastings Timothy, Chanprasert Chutima, Mendonca Christine, Kulkarni Rohit N., Doria Alessandro	4. 巻 68
2. 論文標題 Loss-of-Function Mutation in Thiamine Transporter 1 in a Family With Autosomal Dominant Diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 1084 ~ 1093
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db17-0821	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 該当する

1. 著者名 El Ouaamari Abdelfattah, O-Sullivan InSug, Shirakawa Jun, Basile Giorgio, Zhang Wenwei, Roger Sandra, Thomou Thomas, Xu Shanshan, Qiang Guifen, Liew Chong Wee, Kulkarni Rohit N., Unterman Terry G.	4. 巻 294
2. 論文標題 Forkhead box protein O1 (FoxO1) regulates hepatic serine protease inhibitor B1 (serpinB1) expression in a non-cell-autonomous fashion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 1059 ~ 1069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.006031	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 該当する

1. 著者名 Arai Masanori, Shirakawa Jun, Konishi Hiromi, Sagawa Naoko, Terauchi Yasuo	4. 巻 41
2. 論文標題 Bullous Pemphigoid and Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors: A Disproportionality Analysis Based on the Japanese Adverse Drug Event Report Database	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diabetes Care	6. 最初と最後の頁 e130 ~ e132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/dc18-0210	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 -

1. 著者名 Shirakawa Jun, Terauchi Yasuo	4. 巻 6
2. 論文標題 SUSTAINable management of type 2 diabetes: feasibility of use and safety of semaglutide	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 129 ~ 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/atm.2018.01.35	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 -

1. 著者名 Kimura Masayo, Kondo Yoshinobu, Aoki Kazutaka, Shirakawa Jun, Kamiyama Hiroshi, Kamiko Kazunari, Nakajima Shigeru, Terauchi Yasuo	4. 巻 10
2. 論文標題 A Randomized Controlled Trial of a Mini Low-Carbohydrate Diet and an Energy-Controlled Diet Among Japanese Patients With Type 2 Diabetes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine Research	6. 最初と最後の頁 531 ~ 534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14740/jocmr3281wc1	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 -

1. 著者名 Inoue Hideaki, Shirakawa Jun, Togashi Yu, Tajima Kazuki, Okuyama Tomoko, Kyohara Mayu, Tanaka Yui, Orime Kazuki, Saisho Yoshifumi, Yamada Taketo, Shibue Kimitaka, Kulkarni Rohit N., Terauchi Yasuo	4. 巻 293
2. 論文標題 Signaling between pancreatic cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A8 exacerbates -cell apoptosis and islet inflammation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 5934 ~ 5946
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M117.809228	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 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----