

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月15日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790861

研究課題名（和文） 小胞体ストレスによる膵β細胞調節機構

研究課題名（英文） The mechanism of regulation on pancreatic beta cell mass by ER stress

研究代表者

松田 友和 (MATSUDA TOMOKAZU)

神戸大学大学院・医学研究科・医学研究員

研究者番号：20570344

研究成果の概要（和文）：

2型糖尿病の発症過程において進行性の膵β細胞量減少や機能不全を伴う。DPP-4阻害剤であるビルダグリプチンは、新しいタイプの経口血糖降下剤であり、活性型のGLP-1を増加させることで血糖を低下させる。この薬剤の膵β細胞量に対する効果を検討した。膵β細胞量の減少を伴い軽度高血糖を呈していた膵β細胞特異的C/EBPβトランスジェニックマウス(TG)にビルダグリプチンを飲水投与すると、高血糖を是正し膵β細胞量を増加させた。これらは、膵β細胞において、インスリンシグナルを改善させ、小胞体ストレスを軽減した結果であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

The development of type 2 diabetes is accompanied by a progressive decline in β-cell mass and function. Vildagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, is representative of a new class of antidiabetic agents that act through increasing the expression of glucagon-like peptide-1. The protective effect of this agent on β-cells was studied in diabetic mice. Diabetic pancreatic β-cell-specific C/EBPβ transgenic mice exhibit decreased β-cell mass associated with increased apoptosis, decreased proliferation, and aggravated endoplasmic reticulum stress. Vildagliptin was orally administered to the transgenic mice for a period of 24 weeks, and the protective effects of this agent on β-cells were examined, along with the potential molecular mechanism of protection. Vildagliptin ameliorated hyperglycemia in transgenic mice by increasing the serum concentration of insulin and decreasing the serum concentration of glucagon. This agent also markedly increased β-cell mass, improved aggravated endoplasmic reticulum stress, and restored attenuated insulin/insulin-like growth factor 1 signaling. A decrease in pancreatic and duodenal homeobox 1 expression was also observed in β-cells isolated from our mouse model. Vildagliptin elicits protective effects on pancreatic β-cells and has potential for preventing the progression of type 2 diabetes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,900,000	570,000	2,470,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：エネルギー・糖質代謝異常、小胞体ストレス

1. 研究開始当初の背景

近年、2型糖尿病において、小胞体ストレス

が末梢のインスリン抵抗性を引き起こすことに関して重要な役割を果たしていること

が報告されている (Science 306:457, 2004)。これまで小胞体ストレスの亢進によって活性化された JNK や NF κ B が IRS-1 のセリン残基をリン酸化し、IRS-1 のチロシンリン酸化を抑制することで、インスリンシグナル伝達を抑制することが報告されている (J. Clin. Invest 115:1111, 2005)。また、ケミカルシャペロンを用いた検討では、小胞体ストレスの処理能力を高めることで、末梢のインスリン抵抗性を軽減し、糖尿病の発症が抑制されることが見出された (Science 313:1137, 2006)。膵 β 細胞株 MIN6 を用いた実験では、小胞体ストレスによるアポトーシスが、インスリンシグナル経路の PI3-キナーゼ \rightarrow Akt \rightarrow GSK3 β を抑制することが報告されている (Diabetes 54:968-75, 2005)。また、膵 β 細胞において、eIF2 α のリン酸化による翻訳が小胞体ストレス反応と血糖ホメオスタシスとの関係に必要な不可欠であるとの報告もある (Mol Cell 7:1165, 2001)。これらの結果より、小胞体ストレスが膵 β 細胞不全において重要な役割を担っていることが考えられるが、そのメカニズムは明らかではない。C/EBP β は C 末端に basic leucine zipper domain を有する CCAAT/enhancer-binding protein family に属する転写因子の 1 つである。我々は、現在までに小胞体ストレスにより C/EBP β の発現が誘導されることを明らかにした。また、db/db マウスおよび Akita マウスの膵島では、その発現が亢進していた。これらのマウスに膵 β 細胞特異的 C/EBP β 欠損マウスを交配し、C/EBP β を欠損させると膵 β 細胞量は有意に増加し、血糖値の有意な改善を認めた。糖尿病モデルマウスでは膵 β 細胞において小胞体ストレスマーカーの発現亢進を認めたが、C/EBP β を欠損させることでそれらは抑制された。分子シャペロン GRP78 (Bip) の発現誘導は、C/EBP β を欠損させ

ることでさらに亢進した。逆に膵 β 細胞特異的 C/EBP β トランスジェニックマウスでは、C/EBP β の発現量依存性に膵 β 細胞量は減少した。GRP78 は小胞体ストレスマーカーが亢進しているにもかかわらず抑制されていた。さらに我々は、C/EBP β の発現が増加することで、ATF6 α による GRP78 の転写誘導を競合的に阻害することを明らかにした。 (*Journal of Clinical Investigation*, in press, T. Matsuda, 他 16 名、1 番目) また、我々は db/db マウスの糖尿病発症前後の膵 β 細胞の検討より、前糖尿病状態時に、膵 β 細胞にはインスリンシグナルの減弱と小胞体ストレス負荷が共存することを明らかにしている。さらには、これらが互いに影響しあうことで膵 β 細胞不全が加速していく可能性を示唆した。 (KobJ . Med. Science; 2008. T. Matsuda, 他 2 名、1 番目)

2. 研究の目的

膵 β 細胞特異的 C/EBP β トランスジェニックマウス (TG) を用いてビルダグリプチン (vilda) の膵 β 細胞量に及ぼす効果を明らかにする。

3. 研究の方法

野生群および TG 群それぞれを通常飲水群およびビルダグリプチン (vilda) を 0.6 mg/m 飲水投与した群 (Vilda 投与群) にわけ、各群の体重、摂餌量、耐糖能、膵 β 細胞量を評価した。

4. 研究成果

vilda 投与により、野生群および TG 群に体重、摂餌量に有意差はなかった。TG \cdot vilda 投与群では、随時血糖は低下し、血清インスリン値は有意に増加した。IPGTT においても、TG \cdot vilda 投与群で TG \cdot 非投与群と比較して、有意な血糖値の低下とインスリン値の増加を

認めた。膵β細胞量は、TG・vilda 投与群で TG・非投与群と比較して、有意に増加していた。また、TG 群の膵β細胞では、小胞体ストレスマーカーの発現が上昇し、アポトーシスの亢進、増殖能の低下を認めていたが、TG・vilda 投与群では、小胞体ストレスマーカーの発現の低下、アポトーシスの抑制、増殖能の改善が認められた。TG 群で亢進していた C/EBPβの発現は、TG・vilda 投与群では減少し、TG 群で低下していたインスリンシグナルは TG・vilda 投与群で改善していた。In vitro の検討では、メトホルミンや AICAR は、AMPK をリン酸化させると同時に C/EBPβの発現を抑制させた。GLP-1 受容体アゴニストである Exendin-4 を MIN6 細胞に負荷すると、AMPK のリン酸化および C/EBPβの発現抑制をもたらした。

以上より、ビルダグリプチンは、膵β細胞特異的 C/EBPβトランスジェニックマウスで減少が認められる膵β細胞量を、C/EBPβの発現を抑制することや減弱していたインスリンシグナルを改善させることで、増加させることと考えられた。

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 2 件)

- ① Kumi Kimura, Tomoko Yamada, Michihiro Matusmoto, Yoshiaki Kido, Tetsuya Hosooka, Shun-ichiro Asahara, Tomokazu Matsuda (他 7 名、7 番目) Endoplasmic Reticulum Stress Inhibits STAT3-dependent Suppression of Hepatic Gluconeogenesis via Dephosphorylation and Deacetylation *Diabetes*, 61:61-73. 2012 、 査読有 [doi:10.2337/db10-1684](https://doi.org/10.2337/db10-1684)

- ② Maki Koyanagi, Shun-ichiro Asahara, Tomokazu Matsuda (他 15 名、3 番目) Ablation of TSC2 Enhances Insulin Secretion by Increasing the Number of Mitochondria through Activation of mTORC1, *PLoS ONE*. 6(8):e23238. 2011
、 査 読 有
[doi:10.1371/journal.pone.0023238](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023238)

[学会発表] (計 3 件)

- ① 2012 Asia-Pacific Diabetes and Obesity Study Group
Date: Friday 20-Saturday 21 April 2012
Venue: Diamond Hall, Grand Hilton Hotel, Seoul, Korea
Speaker: Tomokazu Matsuda
Title: Regulation of Pancreatic Beta Cell Mass through ER stress
- ② X III SERVIER-IGIS Symposium
Date: March 15-March 18, 2012
Venue: Saint-Jean-Cap-Ferrat (France)
Speaker: Tomokazu Matsuda
Title: Protective effect of DPP-4 inhibitor vildagliptin (incretin) on pancreatic β -cells in diabetic β -cell specific C/EBP β transgenic mice
- ③ 第 84 回 日本内分泌学会学術総会 若手シンポジウム
日時、場所: 2011 年 4 月 22 日 神戸国際会議場
演者: 松田 友和
演題: 「膵 β 細胞不全における小胞体ストレスの役割」

[図書] (計 1 件)

①糖尿病学 2011 [膵β細胞における小胞体ストレスの役割] 診断と治療社 1-7p
松田友和、木戸良明（岡芳知、谷澤幸生編）

[その他]

研究室ホームページ

<http://www.research.kobe-u.ac.jp/fhs-diabetes/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 友和 (MATSUDA TOMOKAZU)

神戸大学大学院・医学研究科・医学研究員

研究者番号：20570344