

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20925

研究課題名（和文）成熟膵島細胞の永続的な増幅誘導方法の探索

研究課題名（英文）Exploration of long-term expansion methods for pancreatic islets

研究代表者

平野 利忠（Hirano, Michitada）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・客員研究員

研究者番号：10965726

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：世界の糖尿病患者数は生活習慣や社会環境の変化により急速に増え続けている。膵島移植治療は糖尿病を根幹から治療する唯一の方法であるが、圧倒的なドナー不足により治療として普及しておらず、膵島細胞に対する革新的な再生医療の開発が望まれる。

本研究では増殖期膵島細胞において発現しているMYCL遺伝子およびその過程で変化する代謝機構に着目した。本研究により、膵島細胞におけるMYCL発現は増殖を活性化するが、糖刺激を加えることで強烈な増殖が誘導されることを生体内外で明らかにした。また増殖誘導される細胞はインスリンを分泌する細胞であることが示され、本成果をヒトにも応用することで再生医療の発展が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病根治を目指した膵島移植治療の大きな課題は機能性の高い膵島の安定供給にある。研究代表者は以前に世界で初めて機能的な膵島細胞の増幅に成功している。当時は膵島細胞の長期培養は困難であったが、本研究での培養環境の検討や増殖期膵島細胞の特性を解析することで、その問題点が大きく改善された。成熟膵島細胞の増幅誘導方法を最適化し、効率的かつ永続的な膵島増幅技術を開発することは、糖尿病根治を目指した再生医療の発展に意義のある研究であると言える。

研究成果の概要（英文）：The number of patients with diabetes worldwide continues to increase rapidly due to changes in lifestyle and social environment. Although islet transplantation is the ideal approach to improve diabetes, it is not widely common as a treatment due to shortage of donors. In previous report, we focused on the MYC family genes, and showed that the induction of MYCL alone provokes the endogenous expansion of functional INS-producing cells through the division of mature cells.

In this study, we focused on the metabolic mechanisms that are changed in the proliferative process. It was showed that glucose stimulation with MYCL expression induced drastic proliferation both in vivo and in vitro. In particular, we found that insulin-producing cells were dominantly proliferated in this condition. In the future, this expandable approach of mature islet cells represents a potential therapeutic approach for diabetes.

研究分野：動物実験学

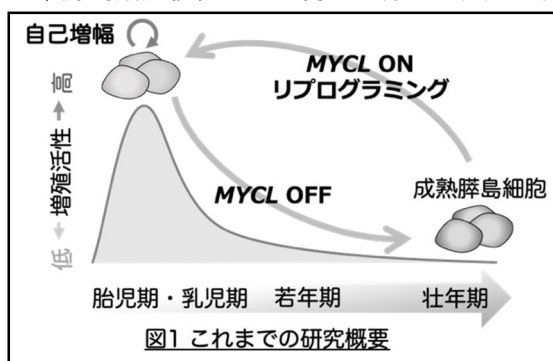
キーワード：リプログラミング 糖尿病 MYCL 再生医療 膵島

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界の糖尿病患者数は4億人を超え、世界における糖尿病およびその合併症に対する医療費は年間90兆円と推定されている。膵島細胞の再生医療は糖尿病の根治療法として期待されるが、成熟膵島細胞は自己複製能をほとんど持たないため、この点が膵島再生医療開発の大きな障壁となっている。そのため、iPS細胞を含む多能性幹細胞からの分化誘導による膵島細胞の再生医療は世界中で盛んに試みられてきた。しかしながら、多能性幹細胞由来の膵島細胞は不均一であり、糖応答性に乏しいことが報告され、未だ医療応用には高い壁があると考えられている。このように、糖尿病の人口や医療経済へ及ぼす影響から、膵島細胞移植による再生医療には大きな期待が集まっているにもかかわらず、研究の進捗は停滞していると考えられる。

我々は世界に先駆けて MYCL 単独遺伝子の一過性発現誘導により、機能的な膵島細胞の増幅が可能であることを示した(図1)。膵島細胞の発生過程に基づいた増幅機構をより詳細に理解することで、成熟膵島細胞の永続的な増幅を目指した。また、効率的な膵島増殖誘導方法により、糖尿病患者の根治を目指した革新的な再生医療の開発を目指す。



2. 研究の目的

申請当時までの研究から、増殖期膵島細胞において MYCL が発現することを見出しており、成熟膵島細胞に MYCL を発現させることで増殖誘導が可能であることを示した。本研究では、発生過程における膵島細胞の増殖メカニズムを詳細に紐解くことで、MYCL による膵島細胞の増幅機構の理解と永続的な増幅誘導法の探索を行った。

3. 研究の方法

我々が独自に開発した MYCL 発現を薬剤依存的に操作可能なマウスモデルを用いることとした。生体内、および単離した膵島細胞を用いて増殖や分子メカニズムの検討を実施することとした。

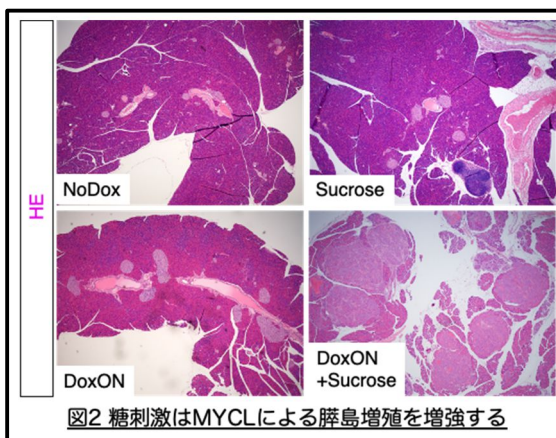
4. 研究成果

(1) 生体内膵島細胞の効率的な増殖誘導

我々は申請当時までに、出生前後に膵細胞の主要な代謝経路がアミノ酸代謝から糖代謝へと変化することに着目し、実際に MYCL 発現誘導可能なマウスより単離した成熟膵島細胞に高グルコース下で MYCL の発現を7日間誘導したところ、より活発な増殖活性が誘導されることを示していた。

そこで、マウス生体内においても同様の機序によって膵島細胞の増殖をブーストできるか検討することにした。膵島細胞特異的に MYCL 遺伝子を発現可能なマウスモデルを製作し (Neurog3-Cre; Rosa26-LSL-rtTA; Col1a1; TetOP-Mycl-IRES-mCherry)、このマウスが8週齢の時点からドキシサイクリンを飲水させることで MYCL の発現を誘導した。また、糖刺激を与えるためにスクロースを溶解させたものを飲水させた。

その結果、MYCL により膵島細胞の増大が認められたが、糖刺激を行うことでその増殖は強烈にブーストされることが示された。



(2) 試験管内における膵島の増殖細胞評価

一般的に膵島はインスリンを分泌する細胞が多く含まれるが、その他にグルカゴンを分泌する細胞やソマトスタチンを分泌する細胞等様々な細胞によって構成されている。上述のように、膵島細胞での糖刺激が MYCL による増殖能を促進させることを生体内外において示してきた。ここでは、どの細胞種において増殖が誘導されるか検討することにした。

細胞(Ins1-CreERT2; Rosa26-mTmG)、細胞(Gcg-CreERT2; Rosa26-mTmG)、細胞(Sst-IRES-CreERT2; Rosa26-mTmG)を標識可能なマウスを MYCL 発現誘導可能なマウスモデル(Rosa26-M2-rtTA; Col1a1; TetOP-Mycl-IRES-mCherry)と掛け合わせた。このマウスより膵島細胞を単離し、試験管内にて 1 週間増殖を誘導したのち FACS にて各細胞種の増加割合を評価した。

その結果、細胞、細胞、細胞とも増殖の誘導が確認されたが、特に糖刺激による激的な増殖誘導条件では細胞が優位に増殖することが示された。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Hirano Michitada, Yamada Yasuhiro	4. 巻 82
2. 論文標題 Reprogramming of pancreatic islet cells for regeneration and rejuvenation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics & Development	6. 最初と最後の頁 102099 ~ 102099
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.gde.2023.102099	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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平野利忠
2. 発表標題 リプログラミング技術を用いた成熟膵島細胞の増幅誘導
3. 学会等名 第11回 Academy of Aging and Cardiovascular-diabetes Research（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 鶴町真也, 平野利忠, 山田泰広	4. 発行年 2023年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 6
3. 書名 生体内リプログラミングによる膵島細胞の増殖誘導	

1. 著者名 平野利忠, 山田泰広	4. 発行年 2023年
2. 出版社 (株)エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 6
3. 書名 第2編基盤技術 第2章遺伝子治療モデル動物 第3節再生医療	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 グルコース経路活性化による隣島細胞の増殖活性化	発明者 平野利忠、山田泰広	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-079704	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------