

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：32409

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659453

研究課題名(和文)新規消化管ホルモン IBCAP を標的とした膵細胞再生医療への応用

研究課題名(英文) Application of the novel intestinal hormone, IBCAP targeted pancreas beta-cell regeneration therapy.

研究代表者

横尾 友隆 (YOKOO, TOMOTAKA)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：80400688

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000 円、(間接経費) 870,000 円

研究成果の概要(和文)：我々が同定した新規消化管ホルモン IBCAP の解析を行い、*in vitro*においても膵細胞増殖促進効果があることを確認した。また、アデノウイルスによる強制発現モデルマウスの解析の結果、肝臓にインスリン陽性細胞を確認した。

以上の結果より、IBCAP は糖尿病、膵再生医療の治療標的となり得る可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：IBCAP (intestine derived beta-cell augmenting promoter) is another intestine-specific secretory protein with incretin-like activity, identified in our laboratory. IBCAP have pancreatic beta-cell proliferation activity *in vitro*. And, insulin positive cells were demonstrated in the liver of STZ-treated type 1 diabetes model mice infected with IBCAP expressing adenovirus. Our results indicate that IBCAP could have an activity to induce not only proliferation but also differentiation of beta-cells. IBCAP may be used as a potent inducer for pancreatic beta-cell regeneration.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内分泌学

キーワード：糖尿病

1. 研究開始当初の背景

日本人のライフスタイルの欧米化により、糖尿病、脂質異常症、高血圧や肥満といった生活習慣病患者数が増加の一途をたどっていることから、そのメカニズムの解明、より有効な治療法の確立が世界的にも急務となっている。

われわれは以前より消化管に注目し、新規消化管ホルモンの探索を目的として消化管特異的な分泌/膜タンパクをマウス腸管より作成した cDNA ライブラリーよりスクリーニングし、同定された因子の解析を行ってきた。その結果、新規消化管特異的な分泌タンパク遺伝子 IBCAP を同定した。

この IBCAP は、機能の一部として、トランスジェニック (Tg) マウスや、アデノウイルスによる IBCAP を強制発現させたマウスでは膵臓ラ氏島に作用し、ラ氏島の増殖や保護作用など形態学変化を起こすことを明らかにしてきた。そのため、膵臓移植や膵臓再生医療への応用も含め、糖尿病、特に 1 型糖尿病の治療薬になり得る可能性があり期待される。

現在、消化管ホルモンであるインクレチン (GLP-1、GIP) はインスリン分泌を誘導することが明らかとなっており、膵 β 細胞保護作用との関連も示唆されている。GLP-1 アナログや GLP-1 分解酵素である DPP-IV の阻害薬は最近新しい糖尿病治療薬として臨床の場で大きな成功を収め注目されており、膵 β 細胞の保護、増殖作用についても期待されている。

一方、IBCAP では全く独立に作製した 2 系統の Tg マウスにおいて膵臓ラ氏島の増加が見られることが確認されている。すなわち、一般的な BL6 系統で作製した Tg マウスおよび、全く別途に KK マウスの ES 細胞から直接作製した Tg マウスの両方で膵臓ラ氏島が

増加する。さらに、ノックアウト (KO) マウスでは逆にラ氏島が減ることが明らかとなっており、IBCAP は単独で膵ラ氏島の量を決める重要な因子であることが強く示唆される。このように、IBCAP は第 3 のインクレチンとして糖尿病に対する根源的治療薬となる可能性がある。

また、現在世界中で行われている膵臓の再生、あるいは ES/iPS 細胞などからの膵 β 細胞への分化誘導に関する研究では、再生した膵臓、膵 β 細胞からのインスリン分泌制御やグルコース応答性、分泌量に問題を多く抱えており、未だにその確立した方法はできていない。この IBCAP はそうした問題も解決できる可能性を秘めていると考えた。

2. 研究の目的

我々は、これまでに新規消化管ホルモン因子として IBCAP を同定し、解析を行ってきた。この IBCAP は機能や生理的意義について未知であり、有用性が明らかになれば、1 型のみならず 2 型糖尿病治療への直接的な応用が期待され、さらに糖尿病治療薬への創薬へとつながる。

そこで本研究では、この IBCAP による膵 β 細胞増殖に関わる分子メカニズムを明らかにし、膵臓・膵 β 細胞再生医療への臨床応用へ向けた分子基盤の解明を目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、われわれが発見した新規消化管ホルモン IBCAP について、糖尿病治療薬の創薬や膵 β 細胞への再生医療などの応用へ向けての検討を行った。

具体的には、「IBCAP による膵 β 細胞に対する増殖効果および分化に与える影響」につ

いて検討を行い、IBCAP は糖尿病治療あるいは膵再生医療の標的となりうるか明らかにするために以下の検討を行った。

(1) IBCAP と膵 β 細胞増殖について

IBCAP の膵 β 細胞増殖促進作用を検討するために、*in vitro* の培養細胞を用いた実験系で増殖能およびそのシグナル経路についての検討を行った。

(2) IBCAP と膵 β 細胞分化について

IBCAP の新たな機能として膵 β 細胞への分化に関与するかについて検討する。アデノウイルスを用いた強制発現モデルにおいて、膵ラ氏島、膵 β 細胞が維持されている可能性が考えられるので、ラ氏島の質・量についても検討する。

4 . 研究成果

(1) IBCAP と膵 β 細胞増殖

これまでの Tg マウスや KO マウスの結果から、*in vivo* において IBCAP に膵臓ラ氏島あるいは膵 β 細胞増殖促進作用があることが判明している。

そこで、*in vitro* の実験系においての再現性を確認し、今後の IBCAP の活性の指標となり得るかについての検討を行った。

膵 β 細胞の培養細胞株である MIN6 細胞を用いて EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) の取り込みを指標に増殖能を検討した結果、この IBCAP 遺伝子産物を含む培養上清には膵 β 細胞増殖刺激作用を持つ事を強く示唆する結果を得た。

(2) IBCAP と膵 β 細胞分化

動物実験モデルにおける IBCAP の膵ラ氏島および膵 β 細胞増殖促進作用が、増殖によ

るものなのか、それとも分化によるものなのかについて検討を行った。

アデノウイルスによる強制発現モデルマウスの解析の結果、肝臓にインスリン陽性細胞の出現を確認した。この効果は、IBCAP による Transdifferentiation によって起こる可能性が強く示唆されると考えられた。

今回の結果から、IBCAP には膵 β 細胞増殖刺激作用および膵 β 細胞への分化誘導作用を持つと言う事を強く示唆する結果を得た。

in vitro においても膵 β 細胞の増殖が見られることから、IBCAP は GLP-1 等のインクレチンと比べてもより強力な膵 β 細胞増殖作用を有していると言える。このように、IBCAP は第 3 のインクレチンとなる可能性があるが、膵 β 細胞増殖に関しては、既存のインクレチンよりもアドバンテージを持っていると考えられる。

IBCAP は他の消化管ホルモンと有意なホモロジーを持たない独自のタンパクであることに加え、これまでに得られた結果から、IBCAP を用いた糖尿病治療は今後の糖尿病治療を変える可能性があると考えられる。

今回の検討の結果を併せて考えると、IBCAP は糖尿病治療の標的となりうる可能性が考えられ、今後の詳細な解析が必要だが創薬・臨床への応用が期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yokoo T, Watanabe K, Iida KT, Suzuki H, Shimano H, Kawakami M, Yamada N, Okazaki Y, Toyoshima H, Expression of IBCAP (intestine-derived beta-cell augmenting promoter), an intestine specific

secretory factor, induces insulin positive cells in the liver., Diabetologia, 55(Suppl1), S182 (2012) DOI: 10.1007/s00125-012-2688-9, 査読有

〔学会発表〕(計5件)

横尾友隆、菅原泉、渡邊和寿、鈴木浩明、島野仁、山田信博、岡崎康司、豊島秀男, 膵β細胞分化における消化管ホルモン IBCAP の役割, 第11回 RCGM フロンティアシンポジウム (埼玉県日高市), 2013.11.23

横尾友隆、渡邊和寿、飯田薫子、鈴木浩明、島野仁、石川三衛、川上正舒、山田信博、岡崎康司、豊島秀男, 新規消化管ホルモン IBCAP による膵β細胞分化・増殖作用の解析, 第56回 日本糖尿病学会年次学術集会 (熊本県熊本市), 2013.5.16

豊島秀男、横尾友隆、鈴木浩明、石川三衛、川上正舒、島野仁、山田信博、岡崎康司, 消化管ホルモン IBCAP による膵β細胞分化増殖に与える影響, 第86回 日本内分泌学会学術集会 (宮城県仙台市), 2013.4.25

Yokoo T, Watanabe K, Iida KT, Suzuki H, Shimano H, Yamada N, Okazaki Y, Toyoshima H, Effect of IBCAP, a Novel Intestine-specific Secretory Protein, on Pancreatic β-cell Differentiation., 第10回 RCGM フロンティア国際シンポジウム (埼玉県日高市), 2012.11.3

Yokoo T, Watanabe K, Iida KT, Suzuki H,

Shimano H, Kawakami M, Yamada N, Okazaki Y, Toyoshima H, Expression of IBCAP (intestine-derived beta-cell augmenting promoter), an intestine specific secretory factor, induces insulin positive cells in the liver., 48th EASD Annual Meeting, (Berlin, Germany), 2012.10.2

〔産業財産権〕

出願状況 (計3件)

名称：新規ペプチド及びその用途

発明者：豊島秀男、岡崎康司、横尾友隆、菅原泉

権利者：埼玉医科大学

種類：特許

番号：特願 2013-109801

出願年月日：平成 25 年 5 月 24 日

国内外の別：国内

名称：膵臓ホルモン産生細胞の生産方法及び膵臓ホルモン産生細胞、並びに分化誘導促進剤

発明者：豊島秀男、岡崎康司、横尾友隆、菅原泉

権利者：埼玉医科大学

種類：特許

番号：特願 PCT/JP2013/064469

出願年月日：平成 25 年 5 月 24 日

国内外の別：国外

名称：膵臓内分泌細胞の生産方法

発明者：豊島秀男、岡崎康司、横尾友隆、菅原泉

権利者：埼玉医科大学

種類：特許

番号：特願 2012-120281

出願年月日：平成 24 年 5 月 25 日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横尾 友隆 (YOKOO TOMOTAKA)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：80400688

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

岡崎 康司 (OKAZAKI YASUSHI)

埼玉医科大学・医学部・教授

研究者番号：80280733

豊島 秀男 (TOYOSHIMA HIDEO)

埼玉医科大学・医学部・客員准教授

研究者番号：20197966