

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790933

研究課題名(和文) 2型糖尿病感受性遺伝子SLC30A8の糖尿病発症機序の解明

研究課題名(英文) Identification of the role of type 2 diabetes susceptible gene SLC30A8

研究代表者

田蒔 基行(TAMAKI, MOTUYUKI)

徳島大学・糖尿病臨床・研究開発センター・助教

研究者番号：60624400

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)：まずSLC30A8の生理的発現部位や、糖尿病マウスにおいてはSLC30A8の発現が高度に低下することを見出し、これを報告した(Tamaki M. et al. *Islets*. 1(2); 124-128, 2009)。次に膵細胞特異的SLC30A8ノックアウトマウスを作製し、SLC30A8の消失は膵細胞機能のみならず、肝臓におけるインスリンクリアランスに障害を与えることを見出し、これらの知見をJournal of Clinical Investigation誌に報告を行った(Tamaki M. et al. *J Clin Invest*. 123(10); 4513-4524, 2013)。

研究成果の概要(英文)：We revealed the physiological expression site of SLC30A8, and expression levels of SLC30A8/ZnT8 was markedly decreased in diabetic model mice (Tamaki M. et al. *Islets*. 1(2); 124-128, 2009). We next generate pancreatic beta cell specific SLC30A8 knock out mice. These mice showed that loss of SLC30A8 was associated with not only beta cell dysfunction, but also worsening hepatic insulin clearance. We reported these findings in Journal of Clinical Investigation (Tamaki M. et al. *J Clin Invest*. 123(10); 4513-4524, 2013).

研究分野：代謝学

キーワード：膵細胞 インスリン 糖尿病

1. 研究開始当初の背景

従来から Zn^{2+} の低下が糖尿病の疾患感受性を高めることが知られていたが、そのメカニズムは長らく不明であった。そうした中、2007年、ゲノムワイドな SNP 解析により、Znt8(Zinc transporter 8)蛋白質を code する遺伝子 *Slc30a8* が 2 型糖尿病の疾患感受性遺伝子のひとつとして同定された。ZnT8 の生体内における役割として、ZnT8 は膵 β 細胞内のインスリン分泌顆粒膜上に発現しており、細胞質から Zn^{2+} を分泌顆粒内へ輸送し、 Zn^{2+} をコアとしたインスリン六量体の形成に密接に関与していると考えられているが、詳細な検討は未だなされていない。そこでわれわれは ZnT8 の役割の解明に向けた研究を開始した。

まず、ZnT8 の C-末端(アミノ酸配列 347-358)ペプチドに対する抗体を作成した。抗体の感度や特異度は Western Blotting 法、あるいは免疫染色法にて確認した。また、アミノ酸配列の相同性が高い ZnT2 あるいは ZnT5 に対しては、ZnT8 抗体が反応しないことを示した。

次に、膵における ZnT8 の発現パターンを検討するために、ZnT8 抗体によりマウス膵の染色を行った。以前の検討では ZnT8 は膵 β 細胞に特異的に発現しているとされていたが、われわれは ZnT8 が β 細胞のみならず、 α 細胞、PP 細胞にも発現していることを示した。また、ZnT8 は胎生 15.5 日、すなわちインスリン発現とほぼ同時期より発現していることも示した。

ZnT8 は 2 型糖尿病の疾患感受性遺伝子のひとつとして同定された蛋白であるため、糖尿病モデルマウス(肥満 2 型糖尿病モデル: db/db マウス、異常インスリン症モデル: AKITA マウス)における ZnT8 発現様式を検討した。これらの糖尿病モデルマウスでは、ZnT8 発現量はインスリン蛋白質の消退とほぼ一致して低下するだろうとの予

想に反して、ZnT8 の発現は糖尿病発症早期においてほぼ消失していることが示された。このことから ZnT8 の発現低下が耐糖能増悪に関与している可能性が示唆されたが、SLC30A8 発現低下自体が糖尿病を増悪させるのかそれとも糖尿病を発症した結果 SLC30A8 の発現が低下するのかは不明であった。

2. 研究の目的

SLC30A8 の欠損が糖尿病発症に与える影響を検討する。

3. 研究の方法

膵 β 細胞特異的 SLC30A8 欠損マウスを作製し、膵 β 細胞における SLC30A8 の役割を検討する。

4. 研究成果

われわれはまず SLC30A8 の生理的発現部位や、糖尿病マウスにおいては SLC30A8 の発現が高度に低下することを見出し、これを報告した(Tamaki M. et al. *Islets*. 1(2); 124-128, 2009)。次に SLC30A8 の発現が低下したために糖尿病を発症したのか、それとも糖尿病発症によって SLC30A8 の発現が低下したのかを明確にするために、膵 β 細胞特異的 SLC30A8 ノックアウトマウスを作製した。その結果、非常に驚いたことに膵 β 細胞における SLC30A8 の消失は膵 β 細胞機能のみならず、肝臓におけるインスリンクリアランスに障害を与えることを見出した。次に SLC30A8 の異常がマウスのみならずヒトにおいても同様にインスリンクリアランス障害を与えるのかを検討するため、ヒトボランティアの協力を得て、SLC30A8 リスクアリル保持者におけるインスリンクリアランスを評価し、ヒトにおいても SLC30A8 の異常はインスリンクリ

アランス異常をきたすことを確認し、これらの知見を *Journal of Clinical Investigation* 誌に報告を行った(Tamaki M. et al. *J Clin Invest.* 123(10); 4513-4524, 2013)。

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 5 件)

英文原著論文・査読あり

Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y, Takeno K, Kawaguchi M, Watanabe T, Ogihara T, Fukunaka A, Shimizu T, Mita T, Kanazawa A, Imaizumi, M, O, Abe T, Kiyonari H, Hojyo S, Fukada T, Kawaguchi T, Nagatatsu S, Hirano T, Kawamori R, Watada H. The diabetes-susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *Journal of Clinical Investigation.* 123(10): 4313-4524, 2013

Shigihara N, Fukunaka A, Hara A, Komiya K, Honda A, Uchida T, Abe H, Toyofuku Y, Tamaki M, Ogihara T, Hiddinga HJ, Sakagashira S, Koike M, Uchiyama Y, Yoshimori T, Eberhardt NL, Fujitani Y, Watada H. Human IAPP-induced pancreatic beta-cell toxicity and its regulation by autophagy. *Journal of Clinical Investigation.* 2014. 124 (8): 3634-3644.

Shigihara N, Uchida T, Yorifuji T, Toyofuku Y, Tamaki M, Fujitani Y, Watada H. Olmesartan and telmisartan comparably preserve pancreatic beta-cell mass with reduction of oxidative stress in db/db mice. *Diabetology International.*

2014. 5 (1): 62-68.

Ishibashi K, Hara A, Fujitani Y, Uchida T, Komiya K, Tamaki M, Abe H, Ogihara T, Kanazawa A, Kawamori R, Watada H. Beneficial effects of vildagliptin combined with miglitol on glucose tolerance and islet morphology in diet-controlled db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 440 (4): 570-575, 2013.

和文総説・査読あり

Tamaki M, Fujitani Y. Role of zinc in type 2 diabetes. *Nihon Eiseigaku Zasshi*, 2014. 69, 1-9.]

[学会発表](計 5 件)

・シンポジウム

田蒔基行. 糖尿病発症・進展にかかわる新規メカニズムの解明 第 88 回日本内分泌学会, 東京 2015/4/23-4/25

田蒔基行. SLC30A8/ZnT8 による膵からの亜鉛分泌は肝でのインスリンクリアランスを調節し、全身の糖代謝恒常性の保持に寄与する. 第 7 回トランスポーター研究会, 京都, 2012/6/9-6/10
今年度の予定 第 88 回日本生化学会大会にて発表予定, 神戸 2015

・一般口演

田蒔基行, 藤谷与士夫 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 SLC30A8/ZnT8 を介した膵肝ネットワークはインスリンクリアランスを制御している 第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会, 神奈川, 2012/5/17-5/19

田蒔基行, 藤谷与士夫 2 型糖尿病疾患感受性遺伝子 SLC30A8/ZnT8 を介した膵肝ネットワークはインスリンクリアランスを制御している 第 85 回日本内分泌学会総会, 名古屋,

2012/4/19-4/21

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

1. 亜鉛輸送担体 ZnT8 の糖尿病発症における役割

http://www.astellas.com/jp/byoutai/other/report_s_h23/.../23-50_hujitani.pdf

2. 糖尿病発症における亜鉛の役割を解明
～肝臓でのインスリンの過剰な分解が糖尿病のリスクを高める～

<http://www.juntendo.ac.jp/graduate/pdf/news03.pdf>

3. 順天堂大学大学院医学研究科代謝内分泌学

http://www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/taisya_naibunpitsu/k4.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

田蒔 基行 (TAMAKI, MOTOYUKI)
徳島大学・糖尿病臨床・研究開発センター・
特任助教

研究者番号: 60624400

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: