

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860741

研究課題名(和文)モデル動物を用いた膵細胞Tcf712の生理的・病態生理的役割の解明

研究課題名(英文)Physiological and pathophysiological roles of Tcf712 in pancreatic beta cells in a murine model

研究代表者

高本 偉碩 (TAKAMOTO, ISEKI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60431871

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)：2型糖尿病感受性遺伝子Tcf712が膵細胞で担う役割をin vivoで明らかにすることを目的として、Tcf712の機能を膵細胞で低下させたモデル動物(DNマウス)を作成し、その表現型を解析した。DNマウスはインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を示し、出生直後から成体に至るまで、膵細胞面積の減少と膵臓全体のインスリン含量の減少を呈した。単離膵島を用いた解析で、DNマウスではインスリンの転写や膵細胞の成熟に重要なMafAの発現低下を認めた。以上から、膵細胞のTcf712は膵細胞量と膵臓インスリン量の制御を通じて、個体としてのインスリン分泌能に重要な役割を果たしていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Common genetic variations of TCF7L2 are associated with type 2 diabetes. In this study, we investigated the roles of TCF7L2 expressed in the pancreatic beta cells in glucose homeostasis. DN mice were generated, in which expression of the dominant-negative form of Tcf712 was driven under a rat insulin promoter. The expression of the dominant-negative form of TCF7L2 from the embryonic stage in the pancreatic beta cells was associated with a reduction in beta cell area and pancreatic insulin content in the newborn mice, leading to impaired glucose tolerance with decreased insulin secretion in the adult stage. Especially, islets from the DN mice showed decreased gene expression of MafA, consistent with the deleterious effects of the dominant-negative form of Tcf712 on beta cell proliferation and insulin production. Thus, our findings suggest that TCF7L2 in the pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose metabolism through regulation of the beta cell mass during development.

研究分野：糖尿病

キーワード：糖尿病 インスリン分泌 膵細胞 Tcf712

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人の 2 型糖尿病感受性遺伝子として、転写因子 TCF7L2 や電位依存性カリウムチャネル KCNQ1 が同定・確認され、さらに最近我々はユビキチン結合酵素 UBE2E2 と核蛋白質 C2CD4A/4B を新たに見出した。

しかし、これまでに同定された多くの 2 型糖尿病感受性遺伝子については、その発現や機能の低下・亢進のいずれが糖尿病発症の原因となるのかほとんど解明されていない。

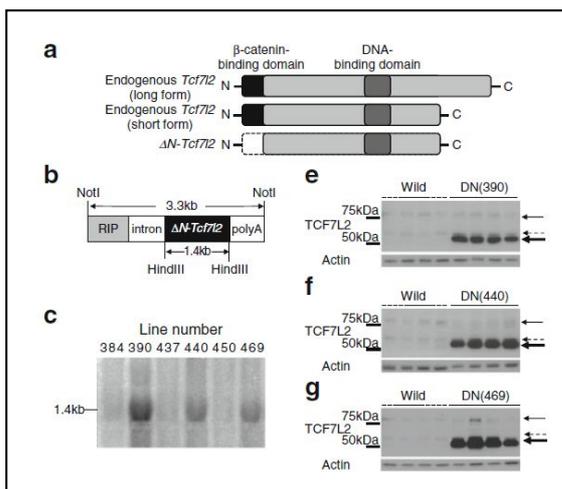
臨床的には、Tcf7l2 遺伝子のリスクアリル保持者ではインスリン分泌が低下していることが報告されているが、2 型糖尿病の発症機構に Tcf7l2 の発現や機能の変化がどのように関与しているか、未だ議論がある。また、Tcf7l2 には多様なスプライシングバリエントが存在し、Dominant Negative 型変異体 (DN-Tcf) の存在も報告されている。

2. 研究の目的

そこで本研究では、DN-Tcf に着目して Tcf7l2 の機能を膵細胞で低下させたモデル動物を作成し、Tcf7l2 が膵細胞で担う役割を in vivo で明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

Tcf7l2 の dominant negative 型変異 (DN-Tcf) を RIP プロモーター (Rat Insulin Promoter) の下流につなぐコンストラクトを構築しトランスジェニックマウス (RIP-DNTcf-Tg; 以下 DN マウスと略記) を作成した。樹立した 6 ラインの DN マウスのうち、膵島における DN-Tcf の発現量が内因性の Tcf7l2 の発現量の 10 倍以上あることが確認できた独立した 3 ライン (390, 440, 469) を選抜・検討した¹⁾。

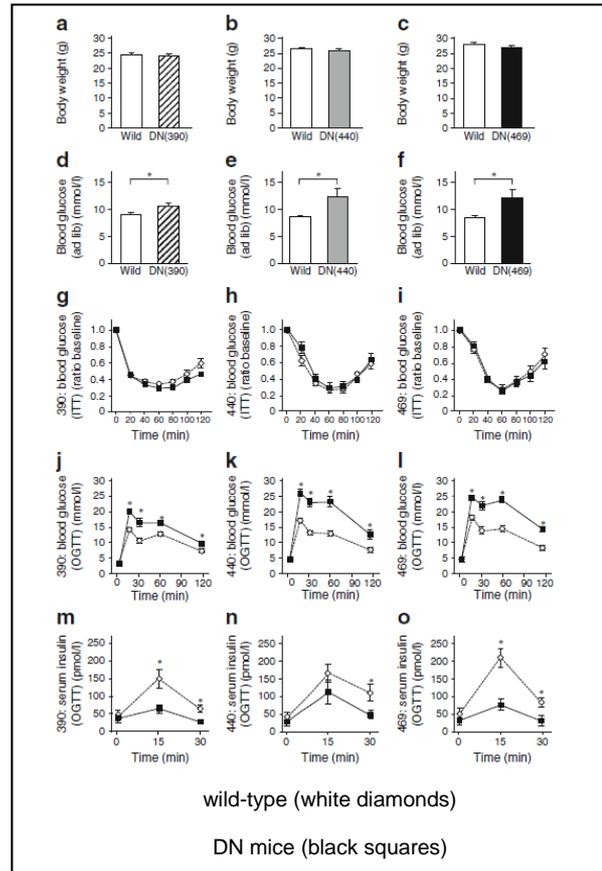


【実験動物に対する動物愛護上の配慮】

実験動物については「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」を遵守して実験に利用し、実験動物の生活環境の保全と、実験に際してできる限り苦痛を与えないように努力した。

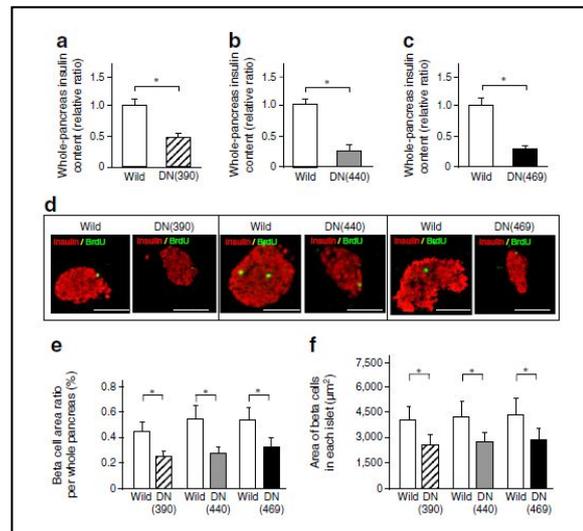
4. 研究成果

(1) 全ての 3 ラインにおいて、DN マウスは野生型 (Wt) マウスと比較して体重は同程度であったが、随時血糖値は高値を示した。またインスリン感受性は同程度であったが、経口糖負荷試験を行うと、DN マウスはインスリン分泌低下を伴う耐糖能異常を呈した¹⁾。

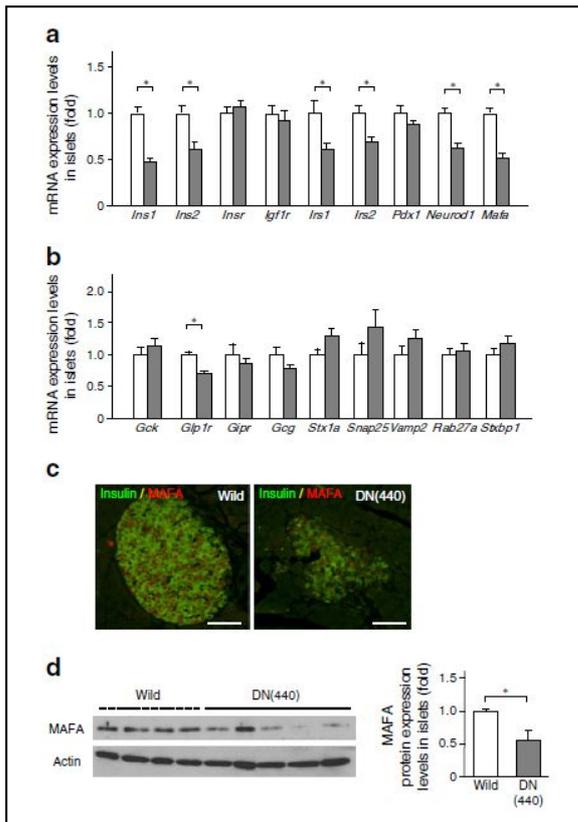


(2) 単離膵島実験において、DN マウスは Wt マウスと比較して膵島 10 個当たりのグルコース応答性インスリン分泌量は少なかったが、インスリン含量で補正したインスリン分泌率は同等であった。

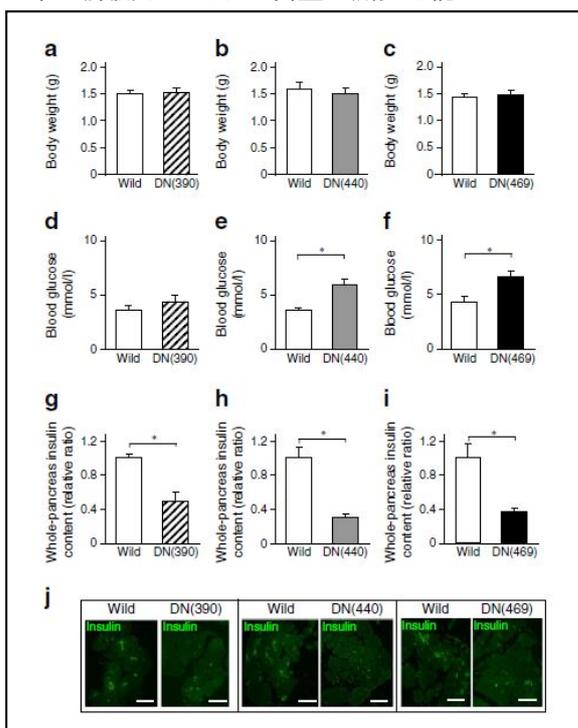
さらに、DN マウスは膵組織像での膵細胞面積の減少と膵臓全体のインスリン含量の減少を呈した¹⁾。



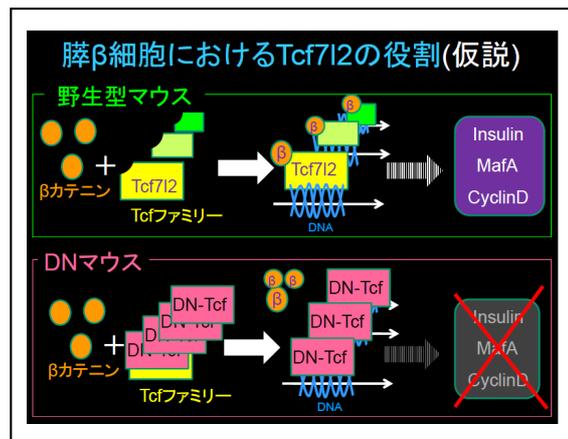
(3) 単離膵島を用いた遺伝子発現解析では、DN マウスはサイクリン D1・D2、インスリン 1・2 の発現の低下を認めた。また、インスリンの転写や膵細胞の成熟に重要な NeuroD1 や MafA の発現低下を認めた。一方で、アポトーシスやインスリン分泌顆粒の開口放出機構に参与する分子の発現については、両者で差を認めなかった¹⁾。



(4) 出生直後のマウスについても解析した結果、成体と同様、DN マウスでは膵組織像での膵細胞面積の減少・膵細胞増殖能の低下と膵臓インスリン含量の減少を認めた¹⁾。



(5) 以上から、in vivo で Tcf7l2 が担うシグナル経路は、膵細胞量やインスリンの転写の制御を通じて、個体としてのインスリン分泌能に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。



(6) ヒト膵島を用いた解析では、2 型糖尿病において Tcf7l2 の mRNA レベルでの発現は亢進しており、これに一致して、TCF7L2 のリスクアレルを有する場合は TCF7L2 の遺伝子領域はクロマチン構造が開きやすくなることが報告されている²⁾。一見すると、膵細胞で Tcf7l2 は単純に「悪玉」と思われる。しかしながら、Tcf7l2 の全てのスプライシングバリエントが「悪玉」とは限らず、Tcf7l2 遺伝子のリスクアレルを有する場合には、膵細胞の分化・増殖や機能を「負」に制御する作用を有するスプライシングバリエントが膵島で増加しているのかもしれない。今後、実際にヒトの膵島や胎生期の膵臓で、Tcf7l2 がどのような挙動を示すのかを明らかにすることが、重要な検討課題になると思われる。

<引用文献>

Takamoto I, Kubota N, Nakaya, et al. TCF7L2 in mouse pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose homeostasis by regulating beta cell mass. *Diabetologia*. 2014;57:542.

Gaulton KJ, Nammo T, Pasquali L, et al. A map of open chromatin in human pancreatic islets. *Nat Genet*. 2010;42:255

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1件)
Takamoto I, Kubota N, Nakaya K, Kumagai K, Hashimoto S, Kubota T, Inoue M, Kajiwar E, Katsuyama H, Obata A, Sakurai Y, Iwamoto M, Kitamura T, Ueki K, Kadowaki T. TCF7L2 in mouse pancreatic beta cells plays a crucial role in glucose homeostasis by regulating beta cell mass. *Diabetologia*.

2014;57(3):542-53. (査読有)
doi: 10.1007/s00125-013-3131-6.
PubMed PMID: 24317852.

〔学会発表〕(計5件)

高本偉碩. 「2型糖尿病疾患感受性遺伝子の機能解析」. 第29回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会. 2015年2月13日. 京都大学芝蘭会館・京都府京都市

高本偉碩. 「膵細胞の Tcf712 は糖代謝と膵細胞量を制御する」. 第57回日本糖尿病学会年次学術集会. 2014年5月23日. 大阪国際会議場・大阪府大阪市

高本偉碩. 「膵細胞において2型糖尿病疾患感受性遺伝子 Tcf712 が担う役割」. 第87回内分泌学会学術総会. 2014年4月24日. 福岡国際会議場・福岡県博多市

高本偉碩. 「膵細胞において2型糖尿病疾患感受性遺伝子 Tcf712 が担う役割の解明」. 第56回日本糖尿病学会年次学術集会. 2013年5月17日. ホテル日航熊本・熊本県熊本市

高本偉碩. 「膵細胞において2型糖尿病疾患感受性遺伝子 Tcf712 が担う役割の解明」. 第86回内分泌学会学術総会. 2013年4月25日. 仙台国際センター・宮城県仙台市

〔図書〕(計1件)

高本偉碩. 「2型糖尿病遺伝子 TCF7L2 の機能を巡って」. 糖尿病学 2014(診断と治療社) 8-14, 2014.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高本 偉碩 (TAKAMOTO ISEKI)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 60431871

(2) 研究協力者

窪田 直人
中屋 恵三
熊谷 勝義
橋本 信嗣
窪田 哲也
井上 真理子
梶原 栄二
勝山 修行
小畑 淳史
桜井 賛孝
岩本 真彦
北村 忠弘
植木 浩二郎
門脇 孝