

ヒト膵β細胞における機能と量の調節機構解明

群馬大学生体調節研究所 代謝疾患医科学分野
白川 純

【緒言】

糖尿病治療の最終目標の1つは、膵β細胞の機能および量を増大させることにより、糖尿病の発症・進展を抑制もしくは遅延させ、さらには糖尿病状態から回復させることである。しかし、最近の研究により、ヒト膵島・膵β細胞とマウスやラット等の動物モデルの膵島・膵β細胞では、その解剖学的な構造や分子の発現パターン、病態が大きく異なることが明らかとなってきた。

本研究の目的は、本邦ではこれまで困難であったヒト膵島研究の基盤を構築し、動物モデル膵島、ヒト膵島、ヒト多能性幹細胞、およびヒト病理組織を用いて、膵β細胞の量や機能の調節機構に関する因子を同定し、その機序を明らかにすることにより、「臨床に還元できる膵β細胞に着目した糖尿病治療法開発」を目指したトランスレーショナルリサーチを展開することである。

【方法・結果】

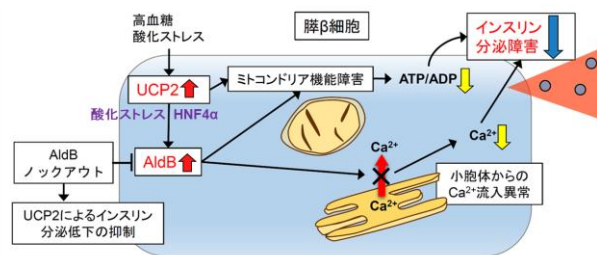
<1> ヒト2型糖尿病における膵β細胞からのインスリン分泌障害機構の解明

2型糖尿病では慢性の高血糖や遊離脂肪酸で誘導される糖毒性や脂肪毒性により膵β細胞からのインスリン分泌が障害されるが、その分子機構の解明は充分でない。我々は、マウス膵島で高グルコース刺激により発現上昇し、かつ2型糖尿病患者の膵島で蛋白発現が増加するミトコンドリア脱共役蛋白の Uncoupling protein 2 (UCP2) に着目した。

マウス膵島において、UCP2の遺伝子発現は高グルコース刺激や酸化ストレスにより上昇した。糖尿病を呈する db/db マウスおよび IRS2 ノックアウトマウスの膵島においても UCP2 の遺伝子発現は上昇した。糖尿病下の膵β細胞で増加する UCP2 が糖尿病病態に与える影響を検討するために、膵β細胞特異的 UCP2 過剰発現マウス (βUCP2Tg) を作成した。βUCP2Tg マウスは野生型マウス (WT) と比較してインスリン分泌低下を伴う高血糖を呈し、UCP2 を過剰発現させたヒト膵島においても、グルコース応答性のインスリン分泌は障害された。UCP2 のミトコンドリア機能へ与える影響を検討したところ、βUCP2Tg マウスの膵島では脱共役の変化を伴わずにミトコンドリア呼吸および ATP 産生が低下することが分かった。また、βUCP2Tg マウスでは、ミトコンドリア電子伝達系 complex1 の蛋白発現が膵島で低下し、電子顕微鏡下にて膵β細胞のミトコンドリアが肥大していた。

次に、膵島の遺伝子発現解析により、WTマウスと比較しβUCP2Tgマウスで約70倍に最も発現上昇する解糖系酵素のアルドラーゼB (AldB) を同定した。AldBの遺伝子発現は糖尿病モデルマウスの膵島および高グルコース刺激を行ったヒト膵島において上昇した。また、AldBを過剰発現した膵β細胞株ではインスリン分泌およびミトコンドリア膜電位が低下した。アルドラーゼが小胞体膜上のTRPVチャネルに作用することが報告されていることから、小胞体からのCa²⁺放出に関して検討した。βUCP2Tgマウスの膵島ではグルコース刺激時およびGPR40受容体作動薬刺激時の細胞内Ca²⁺濃度上昇が抑制され

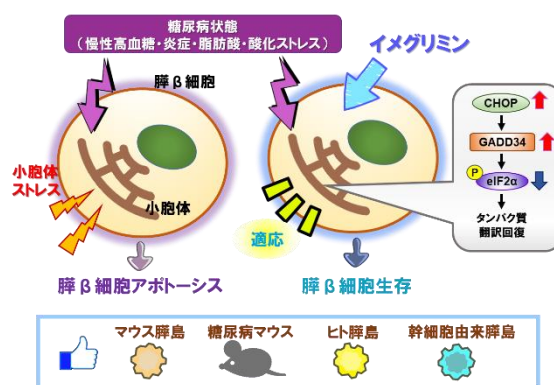
た。AldB過剰発現膵島においてもグルコースおよびGPR40受容体作動薬刺激時の細胞内Ca²⁺濃度上昇が抑制されたことから、UCP2により誘導されるAldBが小胞体からのCa²⁺放出を障害する可能性が示唆された。さらに、膵β細胞においてUCP2の過剰発現により生じたインスリン分泌低下、ミトコンドリア呼吸障害および細胞内Ca²⁺濃度低下が、AldBのノックダウンにより回復することを確認した。以上のことから、2型糖尿病においては、UCP2により誘導されるAldBがミトコンドリア機能低下や小胞体からのCa²⁺放出異常を介してインスリン分泌障害を惹起し、病態形成に寄与する新たな分子機構を明らかにした（右図）。



本研究成果は、*iScience*. 25(7):104603, 2022. (責任著者) に報告した。

<2> 2型糖尿病における小胞体ストレスによる膵β細胞量減少を抑制する新規機序の解明

2型糖尿病における膵β細胞量減少の原因として、糖尿病による高血糖や慢性炎症により惹起される小胞体ストレス応答を介した膵β細胞アポトーシスが重要であり、その治療法開発が望まれている。イメグリミンという新規糖尿病治療薬はミトコンドリアに作用すると考えられていたが、インスリンを産生する膵β細胞で、小胞体ストレス応答に關与するCHOPを誘導し、タンパク質の翻訳（合成）を制御するeIF2αを脱リン酸化させ、統合的ストレス応答（ISR）を修飾し膵β細胞を生存させるという新たなネガティブフィードバック経路を明らかにした（右図）。



この膵β細胞保護作用は、マウス膵島やマウス個体で作用するだけでなく、糖尿病ドナー由来ヒト膵島やヒト多能性幹細胞由来の膵島オルガノイドにおいても認められ、臨床や再生医療への応用が期待された。そこで、予想外に得られた自らの実験データより既知の薬物機能と全く異なる仮説をたて、本プロジェクトを立案し、ヒト膵島やiPS細胞を用いた解析まで、全てを主導・統括した。膵β細胞においてCHOPは小胞体ストレスにより細胞死（アポトーシス）を誘導する分子として報告されていたため、膵β細胞への影響も既報の結果と矛盾していると捉えられ、なかなか受け入れられなかったが、あらゆるモデルでの緻密なデータを積み重ね、慎重に再現性を検証し、経時の変化を解析するとCHOPの一過性発現上昇がISRを負に制御して膵β細胞に保護的に働くことを証明できた

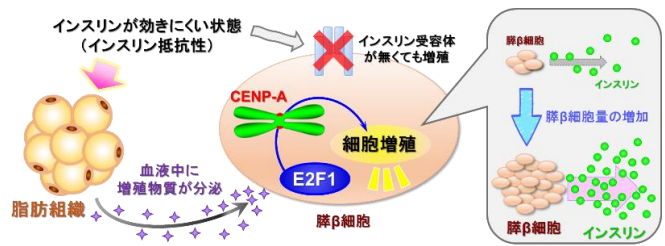
本研究成果は、*Diabetes*. 71(3):424-439, 2022. (責任著者) に報告した。

<3> ヒト2型糖尿病で低下した膵β細胞の量を回復する新たな治療標的の同定

これまで代償性の膵β細胞増殖を呈する急性インスリン抵抗性モデルを開発し報告してきた（*Shirakawa J et al. Endocrinology*. 155(6):2102-1120, 2014.）。この急性インスリン抵抗性モデルマウスで、ヒト膵島との組織共培養によるスクリーニングを実施し、脂肪組織からヒト膵β細胞増殖を促進する液性因子が分泌されることを発見した。この液性因子は転写因子であるE2F1を誘導することでCENP-Aを介した細胞増殖経路を誘導することを見出した。

これより、インスリン抵抗性下では、脂肪細胞由来物質により膵β細胞増殖が促進される新規経路

を同定した。さらに、既存のインスリン受容体依存的経路とは別の機序により、転写因子E2F1やCENP-Aという細胞周期制御分子が膵β細胞の増殖において重要な役割を果たしていることが明らかにした（右図）。すなわち、残された膵β細胞を増やすためには、膵臓だけではなく、脂肪組織などの多臓器とのネットワークに注目しなければならないことが確認された。

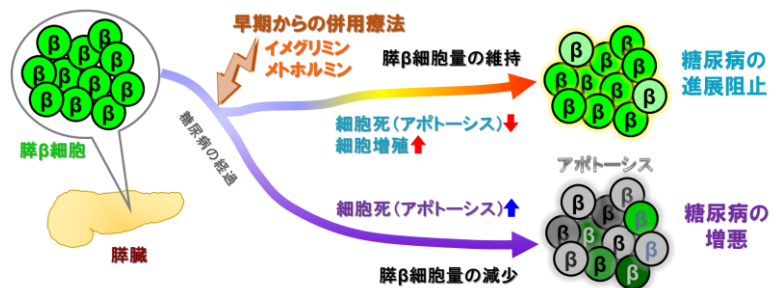


本研究成果は、*Cell Rep.* 41(1):111436, 2022. (責任著者・筆頭著者) に報告した。

<4> ヒト2型糖尿病で低下した膵β細胞の量を回復する新たな治療標的の同定

2型糖尿病治療薬であるイメグリミンとメトホルミンは、血糖低下効果に加えて膵β細胞の小胞体ストレスにも異なる作用機序を有することを明らかにしてきた。そこで、これら2つの薬剤を早期から併用することで、進行性の膵β細胞傷害を抑制できるかを検証した。進行性の膵β細胞障害を呈する著明な肥満と高血糖を呈する2型糖尿病モデルマウスであるdb/dbマウスに糖尿病発症早期からイメグリミンとメトホルミンを併用することにより、単剤療法では認められない膵β細胞の機能回復や膵β細胞の細胞死(アポトーシス)の抑制を認め、膵島の遺伝子発現解析により想定される分子メカニズムが明らかにされた。また、ヒト膵島や糖尿病モデルマウスの単離膵島、膵β細胞株を用いて、これらの作用が、両薬剤の膵β細胞への直接作用を介していることも示した。

これより、糖尿病の発症進展過程において、より早期から小胞体ストレスに対してメトホルミンとイメグリミンなどの相補的な作用機序を有する薬剤を併用することが、糖尿病の発症進展を抑制する治療戦略につながることを示した（右図）。



本研究成果は、*Endocrinology.* 164(8):bqad095, 2023. (責任著者) に報告した。

【考察】

上記のように、ヒト膵島を用いてヒト膵β細胞の機能および量の調節機構に関して、その一端を解明し報告した。現在さらに、実際の生体内で起こっている膵β細胞量制御の本質を理解するため、共培養系の移植モデルを用いた生体内の環境を再現する研究も展開している。

また、欧米でもヒト膵島を用いた膵β細胞の量や機能の制御機構に関する研究は行われているが、人種による病態の違いに迫る研究はほとんどない。そこで、日本人と欧米人の両者の膵島を用いて、日本人の生活様式によるepigeneticな変化が膵島機能に与えた影響や機能的差異の要因を解明し、日本人の膵島機能という特性に応じた糖尿病の病態解明や治療法開発につなげていきたい。

【謝辞】

本研究は、公益財団法人アステラス病態代謝研究会の2021年度研究助成金およびその他の研究費により実施されました。このような機会を与えて頂いた公益財団法人アステラス病態代謝研究会の関係者の皆様に心より厚く御礼申し上げます。