

海外留学研究報告書

2002年8月より米国ハーバード大学ジョスリン糖尿病センター（マサチューセッツ州ボストン市）に博士研究員として留学致しました。ジョスリン糖尿病センターでは、2006年に Juliet Wright Grady Award（賞）と Mary K. Iacocca Fellowship Award（賞）を頂き、2007年には5年勤務に対して表彰されました。また、私自身、留学中に研究を通して、人の雇用、研究室の運営など多くのことを学ばせて頂きました。本当にありがとうございました。心よりお礼申し上げます。無事に留学を終え、帰国しましたので、ここに報告をさせていただきます。

稲田 明理

京都大学大学院時代より一貫して膵β細胞に焦点を当て、糖尿病の病態成立機序と根治的治療に関する基礎研究を行ってきました。留学中は、これまでの研究をさらに発展させ、(1) 転写抑制因子による転写障害のメカニズム、(2) 糖尿病性腎症モデルマウスの開発、(3) 幹細胞からβ細胞への分化についての研究を行いました。本報告書では、これまでに得られた(1)~(3)の結果をまとめました。

(1) 転写因子 CREM によるヒト・インスリン遺伝子の転写調節機構の解明

インスリン産生において、生産量を決定する最初の段階(転写)は重要である。ヒト・インスリン遺伝子には細胞内 cAMP 濃度上昇に応答する領域 (CRE) があり、この領域に結合して転写を調節する転写因子 CREM (CRE Modulator) の機能解析を行った。これまで、インスリン遺伝子の Repressor の存在は報告されていなかったが、膵β細胞の中ではスプライシングによって activator と repressor 両方が産生され、repressor は activator と競合・阻害し転写調節していることを明らかにした (*Journal of Biological Chemistry* 1999)。また、糖尿病状態では、コントロール動物に比し repressor の発現が亢進し activator の発現が減少していることを報告した (*Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998)。

次に、膵β細胞で repressor (ICER) を過剰発現する Tg マウスを作製し repressor の発現亢進による転写障害の影響を証明した。ICER Tg マウスはインスリンの産生が極めて低いため、生後 2 週目より高血糖を維持し、重度の糖尿病を発症した (図 1) (*Molecular and Cellular Biology* 2004)。また、repressor (ICER) は細胞増殖に必須のサイクリン A の発現をコントロールしながら β 細胞の増殖 (細胞周期) を調節していることを示した (*Biochemical and Biophysical Research Communications* 2005)。

これらの研究は糖尿病の病態成立機序の解明につながる重要な研究である。

(2) 糖尿病性腎症動物モデルの確立

糖尿病性腎症は、糖尿病の合併症のうち最も深刻なものであるが、有用な動物モデルの開発は困難であった。そこで、京都大学加齢医学講座・人工腎臓内科と共同で、長期間安定して高血糖を持続することができる ICER マウスにおいて糖尿病性腎症の発症を検討した。

ICER マウスは、死亡するまで安定して高血糖 (500-600mg/dl) を長期間持続する。これまでは、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発モデルが広く使われてきたが、(1) STZ に発癌作用があり直接尿細管に障害を与える、(2) 個体によって血糖値のばらつきが大きい、(3) 長期間生かすことが難しい、(4) 硬化病変が見られないことなどモデルとしては問題点が多い。また、その他の糖尿病モデル動物においても、(1) 別の系統マウスとかけ合わせなければ腎症を発症しない、(2) 血糖値が安定するまでの期間が一律でないため糖尿病性腎症の発症時期が定かでない、(3) 糖尿病性腎症を発症するまでに死亡する、などの問題点が挙げられる。

これに対し、ICER マウスは、(1) 安定した高血糖を長期間持続しながら生存する、(2) 個体による血糖値のばらつきがない、(3) ほかの影響を受けることなく高血糖による影響を見ることができるという利点があり、さらに他のモデルにはないヒトの糖尿病性腎症に類似した糸球体硬化を顕著に均一に示す (図 2) (*American Journal of Pathology* 2005)。

このように、ICER マウスは、糖尿病性腎症やその他の血管系合併症の発症過程を再現できる動物モデルとして期待されている。

(3) 膵β細胞の発生と分化・再生機序の解明

膵β細胞は、成長や体重の増加に伴って生後急激に増加する。β細胞が分裂して増殖し得る数のみでは絶対的に足りないことから新しいβ細胞は幹細胞(Progenitor cell)からも形成されると考えられるが、その発生機序は不明である。最近になって、β細胞の増殖は幹細胞もしくは前駆細胞からではなく膵島の成熟β細胞そのものの複製によるという論文が発表され、大きな議論を呼んだ。

しかしながら、私は、膵切後24時間内に残りが増殖・再生し始め膵管上皮にβ細胞の発生に不可欠な転写因子Pdx-1が発現することや、ヒトの膵管上皮を長期間培養するとインスリン陽性細胞が得られることから膵管上皮に幹細胞が存在するのではないかと考えた。そこで、膵管上皮細胞の系統分析を行うために、これまで膵管上皮のマーカースとして使用されてきた遺伝子群の発現パターンを解析し、その中から分化した膵管上皮にのみ発現する遺伝子であるCAIIをマーカーとして選別した(*Developmental Dynamics* 2006)。

CAII陽性細胞由来の細胞を遺伝的にマークし検討したところ、生後1ヶ月間で約30%の膵ラ氏島がCAII陽性細胞由来であることが明らかになった。さらに成体でも膵管上皮ligation後、CAII陽性細胞由来の新しいβ細胞が分化することを明らかにした(図3)(投稿中)。

以上の結果から、膵管上皮を起源とする新たなβ細胞再生機構を提唱している。そして現在、再生機序の基礎的研究を進めている。