

## 平成 25 年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書 〔追跡評価用〕

◆記入に当たっては、「平成 25 年度科学研究費助成事業（特別推進研究）自己評価書等記入要領」を参照してください。

平成 25 年 4 月 15 日現在

<b>研究代表者 氏 名</b>	清野 進	<b>所属研究機関・ 部局・職</b>	神戸大学・大学院医学研究科・教授
<b>研究課題名</b>	インスリン分泌システムの形成機構とその破綻		
<b>課題番号</b>	15002002		
<b>研究組織 (研究期間終了時)</b>	研究代表者 清野 進（神戸大学・大学院医学研究科・教授）  研究分担者 横井 伯英（神戸大学・大学院医学研究科・科学技術研究員） 柴崎 忠雄（神戸大学・大学院医学研究科・助教） 岩永 敏彦（北海道大学・大学院医学研究科・教授）		

### 【補助金交付額】

年度	直接経費
平成 15 年度	119,800 千円
平成 16 年度	106,000 千円
平成 17 年度	86,000 千円
平成 18 年度	74,000 千円
平成 19 年度	74,000 千円
総 計	459,800 千円

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか

特別推進研究によってなされた研究が、どのように発展しているか、次の(1)~(4)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 研究の概要

(研究期間終了後における研究の実施状況及び研究の発展過程がわかるような具体的内容を記述してください。)

#### 1. スルホニル尿素薬の新たな標的の発見

インスリン分泌における Epac2 の役割を解明する目的で、特別推進研究中に作製した Epac2 FRET (fluorescence resonance energy transfer)センサーを用いて、Epac2 の活性化を引き起こす化合物を検索した。その結果、糖尿病治療薬として広く用いられているスルホニル尿素(SU)薬であるトルブタミド(TLB)とグリベンクラミド(GLB)が FRET の低下を引き起こす (Epac2 を活性化) ことを発見した。また Epac2 欠損マウスの単離膵島では、TLB ならびに GLB 刺激によるインスリン分泌反応が明らかに低下していた。さらに、経口グルコース負荷試験の際の TLB の効果を検討したところ、Epac2 欠損マウスでインスリン反応が有意に低下し、血糖降下作用が減弱した。SU 薬は現在最もよく使用されている糖尿病治療薬の 1 つであり、膵β細胞の ATP 感受性カリウム( $K_{ATP}$ )チャネルの調節サブユニットである SUR1 に結合してチャネルを閉鎖することによってインスリン分泌を刺激すると考えられ、SU 薬の標的分子としては SUR1 が唯一知られていた。本成果は SU 薬のインスリン分泌刺激作用には Epac2 を介するメカニズムも重要であることを初めて明らかにした(Zhang Science 2009, Seino JDI 2010)。現在、SU 薬と Epac2 の docking simulation と Epac2 変異体の FRET 実験から、SU 薬による Epac2 の活性化機構を解明しつつある(高橋ら、未発表)。

#### 2. cAMP シグナルのインスリン分泌における役割の解明

cAMP は膵β細胞においてインスリン分泌を制御する代謝シグナルとしてきわめて重要であるが、その作用については未だ不明な部分が多い。特別推進研究では膵β細胞における cAMP コンパートメントがインスリン分泌制御に重要であることを提唱し、研究期間後は cAMP コンパートメントを構成する分子の解析を進めた。膵β細胞における cAMP シグナルに重要な Epac2 には N 末端領域の cAMP 結合ドメインを欠いたスプライズバリエント Epac2B が存在することを発見し、また Epac2 は N 末端領域を介して細胞膜に局在することでインスリン分泌を制御することを明らかにした(Niimura JCP 2009)。さらに、低分子量 G タンパク質 Rab11 とその標的分子 Rip11 がインスリン分泌制御に関与するとともに、Rip11 が Protein kinase A (PKA)の標的であることを発見した(Sugawara Gene Cells 2009)。一方、cAMP シグナルは 2 相性インスリン分泌増強だけでなく、ニフルム酸感受性 Cl<sup>-</sup>チャネルを介したグルコース応答性の制御にも重要であることを見いだした(Fujimoto Diabetologia 2009)。

代表者らは以前、Epac2 は開口分泌関連分子 Rim2 $\alpha$ と相互作用することでインスリン分泌を制御することを発見した(Ozaki Nat Cell Biol 2000, Kashima JBC 2001)。特別推進研究で作出した Rim2 $\alpha$ 欠損マウスではインスリン分泌不全を伴う耐糖能異常が認められ、同マウスから単離した膵β細胞ではドッキングしたインスリン顆粒数が減少していることを見いだした(Yasuda Cell Metab 2010)。また Rim2 $\alpha$ 欠損膵β細胞株を作製し、各種 Rim2 $\alpha$ 変異体を用いて詳細に検討したところ、Rim2 $\alpha$ と Rab3 との相互作用はインスリン顆粒のドッキングに必要であることが明らかとなるとともに、ドッキングはインスリン顆粒の細胞膜への膜融合を抑制するブレーキの役割を果たすことが示唆された。一方、Rim2 $\alpha$ と Munc13-1 との相互作用はインスリン顆粒のプライミングに必要であることが示された。また Epac2 を介したインスリン分泌の増強には Epac2 と Rim2 $\alpha$ の相互作用が必須であることを発見した。

#### 3. 肥満・インスリン抵抗性の原因となる新たなアディポカインの発見

肥満や 2 型糖尿病の特徴的病態の一つであるインスリン抵抗性にはアディポカインと呼ばれる脂肪組織由来の様々なホルモン様蛋白質が関与している。インスリン抵抗性の細胞モデルを用いた比較プロテオーム解析により、代表者らはインスリン抵抗性を誘導する新規アディポカインとして Progranulin (PGRN)を同定した。3T3-L1 脂肪細胞を用いた比較プロテオーム解析では、腫瘍壊死因子 (TNF)- $\alpha$ ならびにデキサメサゾンによる両インスリン抵抗性誘導において PGRN の発現レベルの増加が認められた。肥満マウスモデルにおいて、血中ならびに脂肪組織の PGRN レベルは正常マウスと比較して優位に高く、インスリン抵抗性改善薬ピオグリタゾンで処理することによって正常化した。また、正常マウスに PGRN を慢性投与したところ、インスリン抵抗性が誘導された。さらに、PGRN 欠損マウスでは高脂肪食(HFD)によるインスリン抵抗性と肥満が著明に抑制された。*in vitro*において、PGRN はインスリン受容体以降のインスリンシグナルを障害し、インスリン依存的な糖取り込みを抑制した。また、PGRN によるインスリンシグナルの障害に IL-6 シグナルが関与することが示された。さらに、*in vivo*での IL-6 シグナルの関与を調べるため、抗 IL-6 抗体 (中和抗体) をマウスに投与したところ、PGRN 慢性投与によるインスリン抵抗性の有意な改善が認められた。以上の結果から、PGRN は HFD によるインスリン抵抗性と肥満を IL-6 を介して媒介する新規アディポカインであることが示された(Matsubara Cell Metab 2012)。

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

(2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など（研究の発展過程でなされた研究成果の発表状況を記述してください。）

主な発表論文(合計 55 編より抜粋、総引用数 459)

1. Niimura M, Miki T, Shibasaki T, Fujimoto W, Iwanaga T, Seino S. Critical role of the N-terminal cyclic AMP-binding domain of Epac2 in its subcellular localization and function. *J Cell Physiol* 219:652-658, 2009
2. Fujimoto W, Miki T, Ogura T, Zhang M, Seino Y, Satin LS, Nakaya H, Seino S. Niflumic acid-sensitive ion channels play an important role in the induction of glucose-stimulated insulin secretion by cyclic AMP in mice. *Diabetologia* 52:863-872, 2009
3. Zhang CL, Katoh M, Shibasaki T, Minami K, Sunaga Y, Takahashi H, Yokoi N, Iwasaki M, Miki T, Seino S. The cAMP sensor Epac2 is a direct target of antidiabetic sulfonylurea drugs. *Science* 325:607-610, 2009
4. Granot Z, Swisa A, Magenheim J, Stolovich-Rain M, Fujimoto W, Manduchi E, Miki T, Lennerz JK, Stoekert CJ Jr, Meyuhos O, Seino S, Permutt MA, Piwnicka-Worms H, Bardeesy N, Dor Y. LKB1 regulates pancreatic beta cell size, polarity, and function. *Cell Metab* 10:296-308, 2009
5. Yasuda T, Shibasaki T, Minami K, Takahashi H, Mizoguchi A, Uriu Y, Mori Y, Miyazaki J-i, Miki T, Seino S. Rim2 $\alpha$  determines docking and priming states in insulin granule exocytosis. *Cell Metab* 12:117-129, 2010
6. De Marinis YZ, Salehi A, Ward CE, Zhang Q, Abdulkader F, Bengtsson M, Braha O, Braun M, Ramracheya R, Amisten S, Habib AM, Moritoh Y, Zhang E, Reimann F, Rosengren AH, Shibasaki T, Gribble F, Renström E, Seino S, Eliasson L, Rorsman P. GLP-1 inhibits and adrenaline stimulates glucagon release by differential modulation of N- and L-type Ca<sup>2+</sup> channel-dependent exocytosis. *Cell Metab* 11:543-553, 2010
7. Koyanagi M, Asahara S, Matsuda T, Hashimoto N, Shigeyama Y, Shibutani Y, Kanno A, Fuchita M, Mikami T, Hosooka T, Inoue H, Matsumoto M, Koike M, Uchiyama Y, Noda T, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Ablation of TSC2 enhances insulin secretion by increasing the number of mitochondria through activation of mTORC1. *PLoS One* 6:e23238, 2011
8. Seino S, Shibasaki T, Minami K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *J Clin Invest* 121:2118-25, 2011
9. Matsubara T, Mita A, Minami K, Hosooka T, Kitazawa S, Takahashi K, Tamori Y, Yokoi N, Watanabe M, Matsuo E, Nishimura O, Seino S: PGRN is a key adipokine mediating high-fat diet-induced insulin resistance and obesity through IL-6 in adipose tissue. *Cell Metab* 15:38-50, 2012
10. Seino S. Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea. *Diabetologia* 55:2096-108, 2012
11. Ogata S, Miki T, Seino S, Tamai S, Kasai H, Nemoto T. A novel function of Noc2 in agonist-induced intracellular Ca<sup>2+</sup> increase during aymogen-granule exocytosis in pancreatic acinar cells. *PLoS One* 7: e37048, 2012
12. Schiemann J, Schlaudraff F, Klose V, Bingmer M, Seino S, Magill PJ, Zaghoul KA, Schneider G, Liss B, Roeper J. K-ATP channels in dopamine substantia nigra neurons control bursting and novelty-induced exploration. *Nat Neurosci* 15:1272-1280, 2012
13. Kim M, Platt M, Shibasaki T, Quaggin S, Backx P, Seino S, Simpson J, Drucker D. GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. *Nat Med*, in press.

主な海外招待講演(合計 27 回より抜粋)

1. Seino S, Takahashi H, Miki T, Shibasaki T: Roles of exocytosis-associated proteins in pancreatic  $\beta$ -cells. Keystone Symposia, Islet and Beta Cell Biology. (Snowbird, Utah, USA), 2008.4.9
2. Seino S, Hagiwara Y, Minami K: Induction of insulin-secreting cells from pancreatic acinar cells in vitro and its mechanism. EMBO Workshop: Beta cell differentiation and regeneration (Peebles, UK), 2009.2.28
3. Seino S: Recent Advanced in Beta Cell Biology: Scientific and Clinical Implications (hosted by the Banting and Best Diabetes Center, University of Toronto) Signal transduction in the islet beta cell (Toronto, Canada), 2009.10.16
4. Seino S: Cell signaling in insulin secretion. Donald Steiner Award Lecture. The 5th Annual Chicago Diabetes Day, The University of Chicago Diabetes Research and Training Center (Chicago, USA), 2010.5.15
5. Seino S: The cell signaling in insulin secretion: a story of molecular targets of ATP, cAMP, and sulfonylurea. The 46th Annual Meeting of EASD, The 4th Albert Renold Prize Lecture (Stockholm, Sweden), 2010.9.21
6. Seino S: Control of insulin granule exocytosis, FASEB Summer Research Conferences (Colorado, USA), 2011.8.14
7. Seino S: Mechanisms of insulin secretion-interplay of glucose metabolism, cAMP, and sulfonylurea. The 3rd Annual Stefan S. Fajans Lecture in Diabetes, University of Michigan, (Ann Arbor, USA), 2012.5.4
8. Seino S: New approach to the study on cell signaling in insulin secretion. Plenary Lecture. 9th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress/4th Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes (Kyoto, Japan), 2012.11.25

## 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか（続き）

### (2) 研究費の取得状況（研究代表者として取得したもののみ）

平成 19-24 年度 科学技術振興機構：戦略的創造推進事業（CREST）：「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」（代表）「糖代謝恒常性を維持する細胞機能の制御機構」、研究経費：総額 450,262 千円、研究代表者 339,926 千円

平成 21-23 年度 文部科学省研究補助金・基盤研究 A（代表）「高次システムとしての膵島機能の発現機構とその破綻」、研究経費：総額 35,300 千円

平成 24-28 年度 文部科学省研究補助金・基盤研究 S（代表）「メタボロミクスによる膵  $\beta$  細胞機能制御機構の解明とその臨床応用」、研究経費：総額 167,700 千円

### (3) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

#### 1. 新たなグルコース応答性インスリン分泌モデルの提唱

従来、グルコース応答性インスリン分泌の第 1 相はすでにドッキングしているインスリン顆粒によって担われる、というモデルが通説であった。しかし特別推進研究で確立したインスリン顆粒動態の解析法によって、第 1 相および第 2 相のいずれも大部分は刺激によって初めて細胞膜にリクルートメントされたインスリン顆粒が、瞬時に細胞膜に融合する様式（restless newcomer）によって引き起こされることを明らかにし、インスリン分泌の新たなモデルを提唱した（Shibasaki PNAS 2007）。本研究後、Rim2 $\alpha$  欠損マウスの膵  $\beta$  細胞の解析から、インスリン顆粒の細胞膜へのドッキング自体はインスリン分泌に必須ではないことを発見した（Yasuda Cell Metab 2010）。この成果は「インスリン顆粒のドッキングは 2 相性インスリン分泌に必ずしも必要でない」という、代表者らが提唱したモデルを支持すると考えられる。

#### 2. Rim2 $\alpha$ のホルモン分泌における役割

Rim2 $\alpha$  欠損マウスは耐糖能障害を示し、血清インスリン値の低下が認められた。また単離膵島においてもインスリン分泌は低下していた。Rim2 $\alpha$  は膵  $\beta$  細胞以外の内分泌組織や細胞にも広く発現することから、インスリンだけでなく、種々のホルモン分泌に関わっている可能性が考えられた。実際、Rim2 $\alpha$  欠損マウスではインスリン分泌増強作用をもつインクレチンである GIP の血清レベルが著しく低下していた。また低血糖で誘導される成長ホルモン分泌の低下（Rim2 $\alpha$  欠損マウスは低体長を示す）やアドレナリン分泌の低下も認められた。したがって Rim2 $\alpha$  は血糖維持に関与するこれらの種々のホルモンの分泌においても、インスリン分泌の場合と同様の役割を果たしている可能性が示された（Yasuda Cell Metab 2010）。

#### 3. SU 薬の標的分子としての Epac2 のインスリン分泌における役割

特別推進研究で開発した Epac2 の FRET プローブを用いて、Epac2 の活性を制御する化合物の探索過程で、糖尿病治療において世界で広く用いられている血糖降下薬 SU 薬が、Epac2 に結合し活性化することを発見した（Zhang Science 2009, Seino JDI 2011）。さらに特別推進研究で作出した Epac2 欠損マウスの解析から、Epac2 を介した SU 薬の作用は、SU 薬がインスリン分泌に対する最大効果を発揮するのに必要であることを明らかにした。

#### 4. インクレチンによるインスリン分泌制御

特別推進研究で K<sub>ATP</sub> チャネル欠損マウスの膵  $\beta$  細胞ではグルコースによるインスリン分泌は欠落しているものの、インクレチン処置時にはグルコース応答性インスリン分泌が惹起されることを見いだした（Miki Diabetes 2005）。このようなインクレチンの作用には引き続いた研究から、cAMP シグナルによるニフルム酸感受性 Cl<sup>-</sup> チャネル活性の制御が必要であることが明らかになった（Fujimoto Diabetologia 2009）。またグルコース濃度の漸次的に増加させた時のインスリン分泌の研究から、インクレチンは 2 相性インスリン分泌の増強だけでなく、グルコース応答性にも重要であることを発見した。

#### 5. ヒトの膵外分泌組織からインスリン分泌細胞の誘導

特別推進研究で成体マウスの膵外分泌細胞が膵  $\beta$  細胞に類似したインスリン分泌細胞へ分化転換できることを初めて発見した。Cre-loxP システムを応用した cell lineage tracing 法により、新たに誘導されたインスリン分泌細胞の起源が膵腺房細胞であることを世界で初めて直接的に証明した（Minami PNAS 2005, Okuno AJP 2007, Minami JBC 2008）。さらに、ヒトの膵外分泌組織からインスリン分泌細胞が誘導できることを報告し、膵外分泌組織が再生  $\beta$  細胞のソースとして有用であることを示した（Minami JDI 2011）。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況

特別推進研究の研究成果が他の研究者に活用された状況について、次の(1)、(2)の項目ごとに具体的かつ明確に記述してください。

### (1) 学界への貢献の状況（学術研究へのインパクト及び関連領域のその後の動向、関連領域への関わり等）

#### 1. 新たなインスリン分泌モデルの提唱(Shibasaki et al., PNAS, 2007)

全反射型蛍光顕微鏡を用いたインスリン顆粒動態解析の成果から提唱した新たなインスリン分泌モデルは、従来のモデルを書き変えるきわめて意義あるものであった。このモデルは代表者らのその後の研究(Yasuda Cell Metab 2010)の他に内外の研究者によって支持されている(Kasai Traffic 2009, Takahashi Cell Metab 2011, Zhu Cell Metab 2012)。糖尿病患者では第1相のインスリン分泌が早期から障害されることが多く、本モデルの分子機構の解明によって糖尿病発症の病因解明や治療法の開発に向けてのアプローチが大きく変わる可能性があり、臨床的な観点からも今後の発展が重要である。

#### 2. cAMPによるインスリン分泌増強の新たなメカニズムの解明(Shibasaki et al., JBC, 2004; Shibasaki et al., PNAS, 2007)

近年、糖尿病の新たな治療薬としてインクレチン関連薬が注目されている。インクレチンは膵β細胞のcAMP産生を増加させることによって、プロテインキナーゼA(PKA)依存性経路およびEpac2依存性経路を介してインスリン分泌を増強する。後者の経路では代表者らが一連の研究を通じて世界をリードする成果を挙げている(Ozaki Nat Cell Biol, Kashima JBC 2001, Fujimoto JBC 2002, Shibasaki JBC 2004, Shibasaki PNAS 2007, Zhang Science 2009, Yasuda Cell Metab 2010)。特別推進研究中では膵β細胞のある特定の領域で細胞内シグナルが統合されるcAMPコンパートメントモデルの提唱やcAMPによるインスリン開口分泌制御におけるEpac2/Rap1の重要性の発見がなされ、これらを発端に膵β細胞におけるEpac2/Rap1を中心とした新たな細胞内シグナルの解明が進められた(Dzhura J Physiol 2010, Kelly JBC 2010, Idevall-Hagren JBC 2010)。また膵β細胞以外では、膵外分泌細胞における消化酵素分泌(Williams AJP 2009)、膵α細胞におけるグルカゴン分泌(De Marinis Cell Metab 2010)、心筋細胞におけるANP分泌(Kim Nat Med 2013)、皮質ニューロンにおけるスパイン形成(Srivastava J Neurosci 2012)においても、Epac2が重要な役割を果たすことが見いだされた。今後、Epac2の開口分泌における役割の解明は膵β細胞に留まらず、種々の分泌細胞で広く進むものと考えられる。

#### 3. 膵腺房細胞のインスリン分泌細胞への分化転換メカニズムの解明(Minami et al., PNAS, 2005; Okuno et al., AJP, 2006; Minami et al., JBC, 2008)

糖尿病の再生医療の確立には、新たな膵β細胞をどの細胞からどのようにして誘導、作製するかが重要な課題となる。膵腺房細胞がインスリン分泌細胞に分化転換できる可能性は示唆されていたが、代表者らによるCre-loxPシステムを用いたin vitroでのcell lineage tracingによって初めて直接的な証拠が提示されるとともに、分化転換メカニズムの一端も解明された。膵組織幹/前駆細胞が同定されない中、代表者らの一連の論文が1つのきっかけとなって、膵腺房細胞が成体における再生膵β細胞の細胞起源である可能性が議論されることとなった。実際に、転写因子の遺伝子導入によってin vivoで膵腺房細胞がβ細胞に再プログラム化されることが示され(Zhou Nature 2008)、また最近になって、ある種の膵傷害時に生じる再生β細胞の起源が膵腺房細胞であることが証明された(Pan Development 2013)。代表者らの成果は、再生膵β細胞の細胞起源や再生メカニズムの理解に大きく貢献していると考えられる。

#### 4. 大規模関連解析による日本人2型糖尿病遺伝子の同定(Yokoi et al., Diabetes, 2006)

インスリン分泌障害は日本人を含めたアジア人の2型糖尿病の特徴であり、膵β細胞の機能に関与する遺伝子は2型糖尿病の候補と考えられていた。本論文は膵β細胞の転写因子およびATP感受性カリウム(K<sub>ATP</sub>)チャネル遺伝子について日本人2型糖尿病を対象として行われた初めての大规模関連解析である。本論文が端緒となり、日本人2型糖尿病を対象とした大規模研究が行われ、様々な2型糖尿病遺伝子が同定された(Doi Diabetes 2007, Sakamoto J Human Genet 2007, Miyake J Human Genet 2009)。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者により活用された状況（続き）

(2) 論文引用状況（上位10報程度を記述してください。）

## 【研究期間中に発表した論文】

No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. <i>Physiol Rev</i> 85: 1303-1342, 2005	種々の分泌細胞における cAMP による開口分泌の多様な制御について PKA 依存経路および PKA 非依存性経路に着目して概説した。また cAMP コンパートメントによる開口分泌制御の重要性を提唱した。	219
2	Lineage tracing and characterization of insulin-secreting cells generated from adult pancreatic acinar cells. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 102: 15116-15121, 2005	成体マウスから単離した膵外分泌細胞を用い spheroid を形成させると膵β細胞に類似したインスリン分泌細胞が誘導できることを発見し、膵腺房細胞がインスリン分泌細胞に分化転換することを直接的に証明した。	116
3	Essential role of Epac2/Rap1 signaling in regulation of insulin granule dynamics by cAMP. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 104: 19333-19338, 2007	cAMP によるインスリン顆粒動態の制御がインスリン分泌増強に重要であることを明らかにし、また Epac2 欠損マウスの膵β細胞のインスリン顆粒動態の解析から、Epac2 はインスリン分泌増強の第1相を制御することを示した。	107
4	K-ATP channels promote the differential degeneration of dopaminergic midbrain neurons. <i>Nat Neurosci</i> 8: 1742-1751, 2005	パーキンソン病において黒質のドーパミンニューロンの変性には、K <sub>ATP</sub> チャネルの活性化が関与することを K <sub>ATP</sub> チャネル欠損マウスを用いて明らかにした。	100
5	Interaction of ATP sensor, cAMP sensor, Ca <sup>2+</sup> sensor, and voltage-dependent Ca <sup>2+</sup> channel in insulin granule exocytosis. <i>J Biol Chem</i> 279: 7956-7961, 2004	cAMP センサーである Epac2 は ATP センサー K <sub>ATP</sub> チャネル、Ca <sup>2+</sup> センサー-Piccolo、開口分泌関連分子 Rim2 と相互作用することで、膵β細胞の特定領域に集積し、インスリン分泌の効率化に寄与することを示唆した。	82
6	Distinct effects of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 on insulin secretion and gut motility. <i>Diabetes</i> 54: 1056-1063, 2005	K <sub>ATP</sub> チャネル欠損マウスの解析から GIP と GLP-1 によるインスリン分泌増強作用は GIP が K <sub>ATP</sub> チャネルに完全に依存しているのに対し GLP-1 は依存しないことを示した。	48
7	Noc2 is essential in normal regulation of exocytosis in endocrine and exocrine cells. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 101: 8313-8318, 2004	Noc2 欠損マウスの解析から Noc2 はストレス時でのインスリン分泌の過度な抑制を防ぎ、正常に維持させることで、高血糖の招来や耐糖能障害を防ぐ役割を担うことを明らかにした。	39
8	Association studies of variants in the genes involved in pancreatic β-cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. <i>Diabetes</i> 55: 2379-2386, 2006	日本人 2,834 例を対象として 2 型糖尿病の発症と転写因子および膵β細胞の機能分子の SNP の関連解析から、K <sub>ATP</sub> チャネルを構成する SUR1 の遺伝子の SNP が強く関連することを発見した。	31
9	Role of cadherin-mediated cell-cell adhesion in pancreatic exocrine-to-endocrine transdifferentiation. <i>J Biol Chem</i> 283: 13753-13761, 2008	膵外分泌細胞からインスリン分泌細胞を誘導するためにはカドヘリン依存性細胞間接着の破壊と再構成が重要であり、その過程には PI3 キナーゼの活性化が必須であることを見いだした。	19
10	Essential role of ubiquitin-proteasome system in normal regulation of insulin secretion. <i>J Biol Chem</i> 281: 13015-13020, 2006.	ユビキチン/プロテアソーム系による電位依存性 Ca <sup>2+</sup> チャネルの正常な機能発現の維持が、インスリン分泌の制御に重要であることを見いだした。	19

【研究期間終了後に発表した論文】			
No	論文名	日本語による簡潔な内容紹介	引用数
1	The cAMP sensor Epac2 is a direct target of antidiabetic sulfonylurea drugs. <i>Science</i> 325:607-610, 2009	cAMP センサーEpac2に、糖尿病治療薬として広く用いられているスルホニル尿素(SU)薬が直接結合して活性化することを見出した。また Epac2 を介した作用は、SU 薬がインスリン分泌に対する最大効果を発揮するのに必要であることを示した。	44
2	LKB1 regulates pancreatic beta cell size, polarity, and function. <i>Cell Metab</i> 10:296-308, 2009	LKB1 欠損膵 β 細胞の解析から LKB1 は下流シグナルを担う mTOR、Par1b、AMPK を協調させることで膵β細胞のサイズ、構造、インスリン分泌能を制御する重要な分子であることを見いだした。	31
3	Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. <i>J Clin Invest</i> 121:2118-25, 2011	代表者らのこれまでのインスリン顆粒動態の研究から、2相性インスリン分泌機構の新たなモデルを提唱するとともに、糖尿病や肥満患者におけるインスリン分泌動態との関連性を考察した。	23
4	GLP-1 inhibits and adrenaline stimulates glucagon release by differential modulation of N- and L-type Ca <sup>2+</sup> channel-dependent exocytosis. <i>Cell Metab</i> 11:543-553, 2010	膵 α 細胞において GLP-1 は PKA を介して N 型 Ca <sup>2+</sup> チャンネル活性を抑制し、グルカゴン分泌を阻害するのに対し、アドレナリンは Epac2 を介して L 型 Ca <sup>2+</sup> チャンネル活性化し、グルカゴン分泌を促進させることを明らかにした。	23
5	Rim2α determines docking and priming states in insulin granule exocytosis. <i>Cell Metab</i> 12:117-129, 2010	Rim2αの欠損マウスの機能解析から、Rim2αが Rab3 と結合することによってインスリン顆粒のドッキングを、Munc13-1との結合から解離することによってプライミングを決定づける重要な分子であることを明らかにした。	21
6	Critical role of the N-terminal cyclic AMP-binding domain of Epac2 in its subcellular localization and function. <i>J Cell Physiol</i> 219:652-658, 2009	Epac2 の N 末端領域に存在する cAMP 結合ドメインを欠いたスプライズバリエント Epac2B を発見し、また Epac2 は N 末端領域を介して細胞膜に局在することでインスリン分泌を制御することが明らかにした。	21
7	Niflumic acid-sensitive ion channels play an important role in the induction of glucose-stimulated insulin secretion by cyclic AMP in mice. <i>Diabetologia</i> 52:863-872, 2009	cAMP によるグルコース応答性には、ニフルム酸感受性 Cl <sup>-</sup> チャンネルが必要であることを見だし、また同チャンネルは、グルコース濃度の漸次的な増加によるインスリン分泌応答に対して、重要な役割を担うことを示した。	14
8	PGRN is a key adipokine mediating high-fat diet-induced insulin resistance and obesity through IL-6 in adipose tissue. <i>Cell Metab</i> 15:38-50, 2012	質量分析計を用いた比較プロテオームの手法によって、インスリン抵抗性に関与する新規アディポカインを探索し、PGRN を同定した。PGRN は IL-6 の作用を介して肥満・インスリン抵抗性を惹起する重要なアディポカインであることを示した。	11
9	Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea. <i>Diabetologia</i> 55:2096-108, 2012	インスリン分泌において重要な ATP や cAMP、また臨床で広く使用されているインスリン分泌促進薬であるスルホニル尿素 (SU) 薬、それぞれの標的分子によるインスリン分泌制御機構を代表者らの成果を中心に概説した。	5
10	K-ATP channels in dopamine substantia nigra neurons control bursting and novelty-induced exploration. <i>Nat Neurosci</i> 15:1272-1280, 2012	K <sub>ATP</sub> チャンネルはパーキンソン病患者の黒質のドーパミンニューロンの機能破綻に関与するだけでなく、ドーパミンニューロンの機能維持において重要な役割を担うことを見いだした。	5

### 3. その他、効果・効用等の評価に関する情報

次の(1)、(2)の項目ごとに、該当する内容について具体的かつ明確に記述してください。

#### (1) 研究成果の社会への還元状況（社会への還元の程度、内容、実用化の有無は問いません。）

研究成果の社会貢献は国内外から高く評価され、研究代表者は現在まで数々の賞を受賞した。また研究成果を踏まえて糖尿病とその治療法を一般市民に広く知ってもらうために、講演や新聞紙上での発表も行った。さらに研究成果の新聞報道による社会への発信や実用化にも積極的に取り組んでいる。

#### 受賞

- ・ 持田記念学術賞（持田記念医学薬学振興財団）（2004年）
- ・ 内藤記念科学振興賞（内藤記念科学振興財団）（2005年）
- ・ 第5回 The Donald F. Steiner Award for Outstanding Achievement in Diabetes Research（シカゴ大学）（2010年）
- ・ 第4回 The Albert Renold Prize（第46回欧州糖尿病学会）（2010年）
- ・ 紫綬褒章（2011年）
- ・ The Kroc Lectureship（ウプサラ大学）（2012年）
- ・ 第3回 Stefan S. Fajans Lecture in Diabetes（ミシガン大学）（2012年）

#### 市民講演

- ・ 第45回日本糖尿病協会総会・年次学術集会 市民のための糖尿病フォーラム「糖尿病に対する再生医療の展望」（2005年5月14日）
- ・ 知的クラスター創成事業：生活習慣病と運動 - 神戸での新たな取り組み「糖尿病の基礎知識」（2008年12月13日）
- ・ 第28回神戸大学大学院医学研究科公開講座：生活習慣病：なぜ治療しないといけないのか？どのように治療するのか？「糖尿病-どんな病気なの？なぜ治療しなければならないの？どんなふうに治療する」（2010年10月30日）
- ・ 平成24年度後期土曜健康セミナー：「糖尿病治療の新たな展開」（2012年10月27日）

#### 新聞や雑誌での市民向けの発表

- ・ 毎日新聞「くらしナビ、健康 第5部インスリンは怖くない」（2007年6月22日）
- ・ 神戸新聞「ひょうごの医療、シリーズ23 2型糖尿病① 基礎知識」（2012年9月1日）
- ・ 月刊神戸っ子「先端医療産業都市神戸／インタビュー」 Vol.515（2004年5月）
- ・ 月刊糖尿病ライフ さかえ「インクレチン関連薬とSU薬の併用による低血糖について」（2010年8月）

#### 研究成果の新聞発表

- ・ PNAS 誌上に発表したストレス誘導性高血糖招来における Noc2 の役割に関する研究成果が新聞紙上で報道された。：科学新聞「ストレス時高血糖—出現メカニズム解明」（2004年6月11日）
- ・ サイエンス誌上に発表したインスリンの分泌を促進する Epac2 に関する研究成果をプレス発表し、以下の新聞に報道された。：読売新聞、日経産業新聞、日刊工業新聞、化学工業日報（2009年7月31日）、毎日新聞（2009年8月7日）、朝日新聞（2009年8月21日）
- ・ サイエンス誌上に発表したインスリンの分泌を促進する Epac2 に関する研究成果が、「技術トレンド調査（2009年度第3回）」において、新たな糖尿病治療薬の開発を促すものとして最上位にランクされた。：日経産業新聞（2009年10月6日）
- ・ サイエンス誌上に発表したインスリンの分泌を促進する Epac2 に関する研究成果が、AAAS（全米科学振興協会）協賛の日本向け冊子「Japanese Scientists in Science 2009 - サイエンス誌に載った日本人研究者」に掲載された。：Japanese Scientists in Science（2009年12月）
- ・ Cell Metabolism 誌上に発表した PGRN に関する研究成果が新聞紙上で報道された。：毎日新聞「糖尿病原因？ たんぱく質：神戸大などマウス実験で発見」（2012年1月4日）、毎日新聞（東京版）「インスリン効果減のたんぱく質：肥満、糖尿病治療に応用も」（2012年1月5日）

#### 研究成果の実用化に向けた展開

- ・ Epac2 FRET センサーを用いたスクリーニング技術について、新規糖尿病治療薬の開発を目指して複数の民間企業と共同研究中である。
- ・ 神戸大学連携創造本部による産学官連携推進の技術シーズとして、「Epac2 FRET システムを用いた薬剤スクリーニング」が神戸大学の HP で掲載された。また本シーズは近畿経済産業局 HP「近畿地域における大学等研究者技術シーズ2010」でも公開された。
- ・ PGRN を血中指標としたインスリン抵抗性検出技術に関する特許出願を行った。また PGRN を標的とした抗体医薬やタンデム質量分析法を駆使した血中存在様式の解析技術について、インスリン抵抗性あるいは肥満の新規診断法および治療法の開発を目指して複数の民間企業と共同研究中である。



**3. その他、効果・効用等の評価に関する情報（続き）****(2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況（助教やポスドク等の研究終了後の動向を記述してください。）**

千葉大学大学院医学研究院 教授（１）

神戸大学大学院医学研究科 准教授（１）

神戸大学大学院医学研究科 講師（１）

名古屋大学院医学系研究科 助教（１）

神戸学院大学薬学部 助教（１）

神戸大学大学院医学研究科 特務助教（１）

神戸大学大学院医学研究科 研究員（１）

東北大学大学院生命科学研究科 研究員（１）

京都大学大学院医学研究科 研究員（１）

国立国際医療研究センター研究所 研究員（１）

理化学研究所 研究員（１）

医薬品医療機器総合機構 審査専門員（１）

武田薬品工業 研究員（１）