

科学研究費補助金（特別推進研究）公表用資料
〔事後評価用〕

平成15年度採択分

平成20年 3月31日現在

研究課題名（和文）インスリン分泌システムの形成機構とその破綻

研究課題名（英文）Formation of the integrated insulin secretion system and its failure

研究代表者

清野 進 (SEINO SUSUMU)

神戸大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要：

本研究では、膵β細胞発生・分化過程におけるインスリン分泌機能発現機構の解明、成熟膵β細胞におけるインスリン分泌機能統合機構の解明、個体レベルにおけるインスリン分泌制御機構の解明、インスリン分泌システムの破綻による病態解析を通してインスリン分泌システム形成機構の全容とその破綻による病態を解明することを目的とした。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：糖尿病、シグナル伝達、発生・分化、バイオイメージング、インスリン分泌、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

膵β細胞から分泌されるインスリンは、哺乳動物において生命維持に不可欠なホルモンである。インスリン分泌はグルコースホメオスタシスの維持の中心的役割を果たし、その破綻により様々な病態が引き起こされる。これまで、インスリン分泌の研究は膵β細胞におけるシグナル伝達を担う個々の要素の解明に焦点が当てられてきた。しかし、細胞レベルで個々の要素がどのように機能統合され、さらに個体レベルで、膵β細胞が他のシグナル伝達系とどのように相互作用しインスリン分泌を制御するのか、即ち、システムとしてのインスリン分泌機能形成機構は依然として不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、4つの研究課題を通してインスリン分泌システム形成機構の全容とその破綻による病態を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

課題（1）膵β細胞発生・分化過程におけるインスリン分泌機能発現機構の解明

幹（あるいは前駆）細胞から膵β細胞への分化過程でβ細胞に特徴的な表現型（グルコース反応性、電気的興奮性、調節性開口分泌機能）がどのような仕組みで発現するかを解明する。

課題（2）成熟膵β細胞におけるインスリン分泌機能統合機構の解明

膵β細胞の開口分泌装置の要素を同定すると同時にそれらの要素がどのように相互に作用し、分泌装置が組み立てられ、制御されるかを解明する。

課題（3）個体レベルにおけるインスリン分泌制御機構の解明

インスリン分泌増強に関与する消化管ホルモンインクレチンを分泌する消化管内分泌細胞におけるグルコース感知機構および膵β細胞と消化管内分泌システムの相互作用による血糖制御機構を解明する。

課題（4）インスリン分泌システムの破綻による病態解析

代表者らが解明した個々の要素（特にATP、cAMP、Ca²⁺のセンサー分子）の異常がインスリン分泌システムをどのように障害し、病態を招来するかを明らかにするため、病態モデルを作製・解析する。同時にヒト糖尿病においてそれらの遺伝子解析を行う。

4. 研究の主な成果

課題（1）膵β細胞発生・分化過程におけるインスリン分泌機能発現機構の解明

(1) 膵腺房細胞から分化転換によってインスリン分泌細胞に誘導できることを初めて直接証明し、そのメカニズムとして、PI3キナーゼの活性化とカドヘリン依存性細胞間接着が重要であることを明らかにした。

[4. 研究の主な成果 (続き)]

(2) Kir6.2G132S トランスジェニックマウスが *in vivo* 膵β細胞再生モデルとして有用であることを示し、ある種のレクチンに結合性を有する細胞が前駆細胞として機能する可能性を示唆した。

課題 (2) 成熟膵β細胞におけるインスリン分泌機能統合機構の解明

(1) インスリン分泌顆粒動態の解析から、グルコース刺激によって惹起されるインスリン分泌は、従来通説となっているモデルとは異なり、第1相と第2相はともに細胞内から細胞膜にリクルートメントされたインスリン分泌顆粒が膜融合する (*restless newcomer* と呼ぶ) ことによって引き起こされることを発見した。

(2) cAMP により活性化された Epac2/Rap1 シグナルは PKA 非依存的に細胞膜近傍に存在するインスリン分泌顆粒プールを増大させることで、インスリン分泌の第1相を増強するという新たな分泌機構が示唆された。

(3) PKA 非依存性インスリン分泌制御には、Epac2を含むcAMPコンパートメントが関与するモデルを提唱した。

課題 (3) 個体レベルにおけるインスリン分泌制御機構の解明

(1) K_{ATP} チャネル欠損マウスの解析から、消化管内分泌細胞特異的なグルコース感知機構の存在、消化管内分泌細胞と膵β細胞の相互作用によるインスリン分泌制御の重要性が示された。

(2) 膵β細胞の分泌関連分子 Noc2 の欠損マウスを作製・解析し、Noc2がインスリン分泌抑制機構である Gi/o シグナルに抑制的に作用することでストレス下でのインスリン分泌を調節することを明らかにした。

課題 (4) インスリン分泌システムの破綻による病態解析

(1) 膵β細胞から同定された転写因子 Dmbx1 の欠損マウスの解析から、Dmbx1 の機能抑制により糖尿病モデルマウスである Ay/a マウスの糖尿病の発症が抑制されること、インスリン分泌が顕著に低いことを明らかにした。

(2) 1型糖尿病モデル KDP ラットの解析から同定した2つの主要遺伝子 (MHC と Cblb) による糖尿病発症モデルを証明した。日本人2型糖尿病候補遺伝子の大規模関連解析により、K_{ATP} チャネルを構成する SUR1 (ABCC8) 遺伝子と強い関連を認めた。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究の成果は、学術的に非常に価値が高く、世界のインスリン分泌研究をリードするものであり、生物学分野ならびに医学分野における波及効果は極めて大きいと考えられる。特に、膵β細胞の再生研究、糖尿病発症の病因解明や治療法の開発、インスリン分泌制御機構の解明、糖尿病を含む糖代謝異常の病態や発症機序の解明を進める上で必須となる極めて重要な成果である。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Shibasaki T, Takahashi H, Miki T, Sunaga Y, Matsumura K, Yamanaka M, Zhang C, Tamamoto A, Satoh T, Miyazaki J, and **Seino S**. Essential role of Epac2/Rap1 signaling in regulation of insulin granule dynamics by cAMP. **Proc Natl Acad Sci USA** 104: 19333-19338, 2007.
2. Fujimoto W, Shiuchi T, Miki T, Minokoshi Y, Takahashi Y, Takeuchi A, Kimura K, Saito M, Iwanaga T, and **Seino S**. Dmbx1 is essential in agouti-related protein action. **Proc Natl Acad Sci USA** 104: 15514-15519, 2007.
3. Yokoi N, Hayashi C, Fujiwara Y, Wang HY, and **Seino S**. Genetic reconstitution of autoimmune type 1 diabetes with two major susceptibility genes in the rat. **Diabetes** 56: 506-512, 2007.
4. **Seino S** and Shibasaki T. PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. **Physiol Rev** 85: 1303-1342, 2005.
5. Minami K, Okuno M, Miyawaki K, Okumachi A, Ishizaki K, Oyama K, Kawaguchi M, Ishizuka N, Iwanaga T, and **Seino S**. Lineage tracing and characterization of insulin-secreting cells generated from adult pancreatic acinar cells. **Proc Natl Acad Sci USA** 102: 15116-15121, 2005.
6. Matsumoto M, Miki T, Shibasaki T, Kawaguchi M, Shinozaki H, Nio J, Saraya A, Koseki H, Miyazaki M, Iwanaga T, and **Seino S**. Noc2 is essential in normal regulation of exocytosis in endocrine and exocrine cells. **Proc Natl Acad Sci USA** 101: 8313-8318, 2004.

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/phys1/index.html>