学内グラント 報告書

平成23年度　学内グラント終了時報告書

新規消化管ホルモンIBCAPを標的にした膵β細胞再生の分子基盤の解明

研究代表者　横尾　友隆（ゲノム医学研究センター）
研究分担者　豊島　秀男＊

緒　言

日本人のライフスタイルの欧米化により，糖尿病，高脂血症，高血圧や肥満といった生活習慣病患者数が増加の一途をたどっていることから，そのメカニズムの解明，より有効な治療法の確立が世界的にも急務となっている．

インスリンは血糖を低下させる唯一のホルモンで，膵β細胞でのみ分泌される．1型糖尿病では自己免疫的プロセスによってβ細胞が絶対的に減少する．2型糖尿病においてもβ細胞が相対的に減少し，十分なインスリンが分泌されず血糖値が上昇する．膵β細胞の増殖，維持，再生の制御を理解することで膵β細胞の減少を食い止め，再生することが可能になれば，糖尿病治療へ応用することで，根治を目指すことが可能となる．現在のところ，根治療法として，膵島移植が行われているが，生着率が低いことや，絶対的ドナー数の不足が問題となっており，膵β細胞再生やES/iPS細胞から膵β細胞への分化誘導方法について世界中で試みられているが[1,2]，インスリン産生量不足やグルコース応答性に乏しいなど限界がある．

近年，消化管は栄養の消化をするとともに消化管ホルモンを分泌する内分泌器官としても注目を受けている．消化管ホルモンであるGLP-1，GIPはインスリン分泌の誘導や肥満との関連も示唆されていること[3,4]からも消化管ホルモンの詳細な検討は，エネルギー代謝や摂食行動など，生活習慣病においてその成因の新しいメカニズムの解明および治療法の開発につながる．中でもGLP-1アナログやGLP-1分解酵素であるDPP-IVの阻害薬は最近新しい糖尿病治療薬として臨床で使われ始めており，今後の糖尿病の治療を大きく変える可能性が注目されている．

われわれは，以前より消化管に注目し，新規消化管特異的分泌タンパクおよび膜タンパクの単離，同定を，ひいては新規消化管ホルモンの探索を目的として，消化管特異的な分泌タンパクおよび膜タンパクをマウス腸管より作成したcDNAライブラリーよりOligo-cap SST（Signal Sequence Trap）法でスクリーニングし[5,6]，同定された因子の解析を行ってきた．スクリーニングの結果，新規消化管特異的分泌タンパク遺伝子IBCAP（Intestinal Beta-cell Augmenting Promoter）を同定した．

本研究では，われわれが発見した新規消化管ホルモンIBCAPについて，このIBCAPによる膵β細胞増殖に関わる分子メカニズムを明らかにし，膵臓・膵β細胞再生医療への臨床応用へ向けた基礎的な分子基盤の解明を目的に行った．

材料・方法

IBCAP-トランスジェニック（Tg）マウスおよびIBCAP-ノックアウト（KO）マウスは，ホルマリン灌流固定後，膵臓をパラフィン包埋し切片を作製しアルデヒドフクシン染色を行った．膵β細胞の増殖能の検討には，マウス膵β細胞株MIN6細胞を用いた．また，解析に用いた分子生物学的・細胞生物学的手法は定法に従い行った．

動物実験については，埼玉医科大学動物実験規定において決められた倫理基準に従って行った．

結　果

この新規消化管ホルモンIBCAPは，機能の一部として，マウス単離ラ氏島におけるインスリン分泌刺激を誘導する可能性が考えられる結果を得ている．また，アデノウイルスによるIBCAPを強制発現させたマウスでは膵臓ラ氏島に作用し，ラ氏島の増殖や保護作用など形態学変化を起こし，糖尿病改善作用を持つことが考えられた．本研究計画では，これまでに機能未知な

＊ゲノム医学研究センター

新規消化管ホルモンIBCAPを標的として，将来的には臨床応用を目指し，膵β細胞の増殖・再生の分子基盤の解明を目的に，今回は膵β細胞の増殖について焦点をあてて検討を行った．

まず始めにIBCAPのGain of Function/ Loss of Functionによる膵β細胞増殖作用をIBCAP-Tg/ KOマウスの膵臓切片のアルデヒドフクシン染色を観察した．その結果，IBCAPの機能として膵ラ氏島の増殖と深く関与する可能性を示唆していた（data not shown）．

次に，*in vitro* の系でもIBCAPにより膵β細胞の増殖を示すかどうかについて膵β細胞の培養細胞株であるMIN6細胞を用いて検討を行った結果においても，*in vivo*と同じく，IBCAPには増殖刺激作用を持つと言う事を強く示唆する結果を得た（data not shown）．

考　察

IBCAPはインスリン分泌促進作用を示すなどインクレチン様作用を持つことが考えられることから，IBCAPは糖尿病治療の標的となり得る可能性を秘めている．本研究では，IBCAPの膵β細胞増殖について検討を行った．その結果，このIBCAPは機能の一部として，膵臓β細胞増殖促進作用を持つことが考えられた．しかし，膵β細胞への分化に対する効果・作用については今回未検討である．IBCAPは既存の膵β細胞への分化誘導法の時間短縮・効率化や膵島移植に対する保護・生着率向上など様々な場面で重要な因子になり得る可能性が考えられるために，これからの解析が待たれる．

また，IBCAPの活性化は切断された後，IBCAPペプチドとなって活性体となることが予想されるために，その1次構造の決定や活性体ペプチドに対する受容体の同定が今後重要になってくると考えられる．IBCAPは他の消化管ホルモンとは有意な相同性を持たないことも特徴であり，そのためIBCAPの生理的意義や糖尿病との関連性が解明されると，糖尿病の根治につながる可能性が考えられる．

今回の検討の結果を併せて考えると，IBCAPはインスリン分泌促進作用とともに，膵β細胞増殖作用への関与が考えられることから，糖尿病治療あるいは膵再生医療の標的となりうる可能性が考えられ，今後の詳細な解析が必要だが創薬・臨床への応用が期待される．

謝　辞

本研究はゲノム医学研究センターゲノム科学部門，実験動物施設において実施されました．御協力頂きましたゲノム医学研究センター所長 岡﨑康司教授，技術員 伊関美緒子さん，そして多くの共同研究者の方々に深謝致します．

また，このような発表の機会を頂き，別所正美学長，医学研究センター 松下祥教授に感謝申し上げます．

研究成果リスト

学会発表

1) 横尾友隆，渡邊和寿，飯田薫子，鈴木浩明，島野仁，石川三衛，川上正舒，山田信博，岡﨑康司，豊島秀男．新規消化管ホルモン因子IBCAPによる膵β胞増加作用の解析，第26回日本糖尿病合併症学会，2011年10月14日，大宮
2) Toyoshima H [Invited Speaker]. IBCAP; discovery of another intestinal hormone with beta cell augmenting activity, The 2011 International Conference on Diabetes and Metabolism, November 11, 2011, Seoul, Korea
3) Yokoo T, Watanabe K, Tada Iida K, Suzuki H, Shimano H, Kawakami M, Yamada N, Okazaki Y and Toyoshima H. Demonstration of IBCAP as a Novel Intestine-specific Secretory Protein with Incretin-like Activity, 第34回日本分子生物学会年会，2011年12月14日，横浜

参考文献

1) Jiang W, Shi Y, Zhao D, Chen S, Yong J, Zhang J, et al. In vitro derivation of functional insulin-producing cells from human embryonic stem cells. Cell Res 2007;17:333-44.
2) Mao GH, Chen GA, Bai HY, Song TR, Wang YX. The reversal of hyperglycaemia in diabetic mice using PLGA scaffolds seeded with islet-like cells derived from human embryonic stem cells. Biomaterials 2009;30:1706-14.
3) Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. Lancet 2006;368:1696-705.
4) Drucker DJ. The role of gut hormones in glucose homeostasis. J Clin Invest 2007;117:24-32.
5) Wang Y, Suzuki H, Yokoo T, Iida KT, Kihara R, Miura M, et al. WGEF is a novel RhoGEF expressed in intestine, liver, heart, and kidney. Biochem Biophys Res Commun 2004;324:1053-8.
6) Watanabe K, Okamoto F, Yokoo T, Iida KT, Suzuki H, Shimano H, et al. SPARC is a major secretory gene expressed and involved in the development of proliferative diabetic retinopathy. J Atheroscler Thromb 2009;16:69-76.

© 2012 The Medical Society of Saitama Medical University　