

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：糖代謝恒常性を維持する細胞機能の制御機構

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

清野 進 (神戸大学大学院医学研究科 教授)

主たる共同研究者

溝口 明 (三重大学大学院医学研究科 教授)

稲垣 暢也 (京都大学大学院医学研究科 教授)

清水 謙多郎 (東京大学大学院農学生命科学研究科 教授) (平成 20 年 4 月～平成 22 年 3 月)

3. 研究実施概要

生命活動において本質的かつ根源的な生体反応である糖代謝の制御機構を明らかにする目的で、質量分析計を用いたメタボローム、プロテオーム解析を主要な基盤技術として、①膵島機能の制御機構の解明、②膵島細胞の再生制御機構の解明、③代謝異常症と膵島機能異常との関係の解明について研究を実施した。

膵島機能の中心的役割を担う膵 β 細胞は、血糖降下ホルモンであるインスリンを産生・分泌し、インスリン分泌を惹起あるいは修飾する代謝シグナルとして ATP、cAMP、Ca<sup>2+</sup>が重要である。清野グループでは Epac2A が膵 β 細胞の cAMP センサーとして機能することを既に発見しているが、本研究では、糖尿病治療薬として広く使用されているスルホニル尿素(SU)薬が Epac2A に直接結合して活性化することを見出した。従来、SU 薬は膵 β 細胞の細胞膜に存在する SU 受容体に結合することでインスリン分泌を促進すると考えられていたが、今回の発見で SU 薬が最大効果を発揮するためには Epac2A の活性化が必要であることが明らかとなり、Epac2A が糖尿病治療薬のターゲットとして有望であることを示した。また、同グループでは Epac2A に結合する分子として Rim2αを同定しており、本研究では、インスリン分泌顆粒の組織学的解析を分担する溝口グループとともに、この分子の欠損マウスの解析を実施した。その結果、Rim2αが相互作用する分子の組み合わせによってインスリン分泌の各ステップ(ドッキング、プライミング)を制御していることを発見し、これまで不明であったプライミングの分子機構の一端を明らかにした。さらに、独自に樹立した cAMP シグナル応答性の異なる 2 種のマウス膵 β 細胞株を用いて、グルコース代謝と cAMP シグナルの相互作用のメカニズムを解析した。清水グループならびに大阪大学福崎教授の協力のもと、両細胞間の包括的比較メタボローム解析を実施し、リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルの活性が cAMP によるグルコース応答性インスリン分泌の増強に必須であることを発見した。

膵島細胞の再生制御機構に関しては、マウスをモデルとして用いて、膵腺房細胞からインスリン分泌細胞への分化転換において、細胞接着の破壊と再構成が重要な役割を演じていることや、細胞接着の再構成に PI3 キナーゼを介したシグナルが関与していることなどを明らかにするとともに、ヒトの膵外分泌細胞からもマウスの場合と同様の方法、メカニズムでインスリン分泌細胞が誘導できることを示した。また、膵 β 細胞が *in vitro* で脱分化してインスリンの発現を失った後に増殖し、ある種の条件では再度インスリン発現を回復することを見出した。さらに、膵 β 細胞を任意のタイミングで選択的に標識して追跡できるモデルマウスを作製し、出生後も膵 β 細胞は自己複製以外のメカニズムでも生じ得ることを証明した。

代謝異常症との関係については、質量分析計を利用した比較プロテオーム解析の手法によって、糖尿病の発症にきわめて密接に関連するインスリン抵抗性を引き起こす因子を探索し、プログラニューリン(PGRN)を同定した。PGRN は肥満マウスで血中濃度が高く、インスリン抵抗性改善薬の投与によりその濃度が低下した。健常マウスに PGRN を慢性投与するとインスリン抵抗性が惹起された。これらの結果から、PGRN はインスリン抵抗性や肥満のマーカーとなるだけでなく、インスリン抵抗性を引き起こす原因になっていると考えられた。また、糖尿病モデルラットを用いた血液メタボローム解析により糖尿病の超早期診断や病態評価に有用なバイオマーカーの探索を進め、非肥満性 2 型糖尿病モデルである GK ラットおよび SDT ラットを用いた解析から糖尿病のバイオマーカー候補となり得る代謝物を同定した。さらに、少数のヒトサンプルを用いたパイロット解析を実施し、ヒトにおいてもラットと同様に血液メタボローム解析を行うことが可能であることを確認した。稲垣グループは膵島における脂質メタボローム解析を実施し、病態や栄養状態の違いによって組織の脂質組成が異なることや、n-3 系多価不飽和脂肪酸の摂取によりインスリン抵抗性が改善し、糖代謝が改善するこ

とを明らかにした。

#### 4. 事後評価結果

##### 4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

糖代謝恒常性の維持の制御機構の解明を目指し、膵島機能の制御機構、膵島細胞の再生制御機構、代謝異常と膵島機能異常との関係の3点から研究が進められた。cAMP センサーである Epac2A が糖尿病治療薬のスルホニル尿素薬によって直接活性化されること、Epac2A と結合する Rim2 $\alpha$  がインスリン顆粒の開口放出において重要な役割を果たすとともにEpac2A を介したインスリン分泌の増強に必須であることを明らかにした。さらに、新たに樹立した膵  $\beta$  細胞株を用いたメタボローム解析から、インクレチン(cAMP シグナル)によるグルコース応答性インスリン分泌の増強にはリンゴ酸—アスパラギン酸シャトルが必須であること、並びにこのシャトルを介して産生されるグルタミン酸が cAMP によるインスリン分泌に関与することを明らかにした。また、血清を用いたメタボローム解析から糖尿病の超早期診断に有用なバイオマーカー候補になりうる代謝物を同定した。一方、プロテオーム解析からは、インスリン抵抗性に関与する新規アディポカインとしてプログラニュリンを同定した。膵島細胞の再生機構に関しては、出生後も膵  $\beta$  細胞は自己複製以外のメカニズムでも生じうることを明らかにした。膵島のリン脂質のメタボローム解析により、摂取する脂質量や脂質組成が、膵島のリン脂質組成を変化させること、さらには耐糖能に影響を及ぼしうることを示唆する結果を得た。このように研究は極めて順調に進捗し、独創性と質が極めて高い研究成果が数多く得られている。論文もトップレベルの国際論文誌に着実に発表されている。特許は2件出願され、企業との共同研究も行われつつある。

##### 4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

スルホニル尿素薬の新たな標的分子としての Epac2A の発見とその役割の解明や cAMP シグナルによるグルコース応答性インスリン分泌の増強にはリンゴ酸—アスパラギン酸シャトルが必須であることの見直しなど、非常に独創性の高い研究成果が得られてきており学術的インパクトは極めて大きい。スルホニル尿素薬の新たな標的分子としての Epac2A の発見は、新しい糖尿病薬の開発につながるものであり、血清を用いたメタボローム解析による糖尿病の超早期診断に有用なバイオマーカー候補の同定とともに、技術的・社会的インパクトも大きな成果といえる。膵島細胞の再生機構に関する成果も再生医療の観点から有用性が考えられる。本研究では、メタボローム解析を通して優れた成果が得られており、本領域への貢献は多大なものがある。

##### 4-3. 総合的評価

インクレチン(cAMP シグナル)が生理的にリンゴ酸—アスパラギン酸シャトルを介してグルコース代謝と相互作用し、インスリン分泌の増強作用を発揮することを明らかにした成果は、cAMP によるグルコース応答性インスリン分泌増強作用に特定の代謝経路が関与することを初めて示したものであり、特筆すべき成果である。Epac2A の構造解析やプログラニュリンに関する研究、並びに血清を用いたメタボローム解析から得られた糖尿病の超早期診断に有用なバイオマーカーの研究は、糖尿病の新しい診断・治療法の開発に向け、今後さらに発展することが期待できる。本研究は、研究領域の趣旨にてらして極めて優れた成果が得られたものと評価できる。