

長寿医療研究開発費 平成30年度 総括研究報告（総合報告及び年度報告）

加齢に伴い減少する膵臓β細胞の再生因子の同定（28-25）

主任研究者 今井 剛 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部（部長）

分担研究者

津川 陽司 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部（流動研究員）

伊藤美由紀 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部（特任研究員）

堤 元佐 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部（研究補助員）

ドクマイコイ 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部（研究補助員）

研究要旨

3年間全体について

加齢に伴い膵臓β細胞は減少することがよく知られている。しかし、膵臓β細胞の再生因子の存在は知られていない。そのため、同因子の同定を試みた。膵臓β細胞は唯一のインスリン分泌細胞である。そのため、インスリン分泌制御機構を研究する目的で、新規インスリン分泌制御因子の同定を行った。同因子は培養細胞・生化学・マウス遺伝学においてインスリン分泌を制御していることが判明した（投稿中）。マウス遺伝学には大きく二つ存在する。一つはいわゆるノックアウトマウスに代表されるロス・オブ・ファンクションであり、もう一つは強制発現マウスに（いわゆるトランスジェニックマウス）に代表されるゲイン・オブ・ファンクションである。どうインスリン分泌制御因子は既知因子でそのノックアウトマウスは胎児期致死であることが判明しているため、β細胞特異的強制発現マウスを作成した。

その結果、同インスリン分泌制御因子強制発現マウスの1ラインは膵臓β細胞が増殖していた（約100倍程度）。しかし、インスリン分泌は正常であった。

そのため同因子はインスリン以外の分子（膵臓β細胞再生因子）の分泌制御も行っていることが判明したため、共沈する因子のLC/MSを行った。数ある共沈因子の中から、候補因子を2種類（βCGF1とβCGF2）選択した。βCGF1についての解析を培養β細胞ヒトPANC1/マウスNIT1を用いて行ったところ、βCGF1/2ともにPANC1/NIT1細胞再生活

性が存在した。また、 $\beta$ CGF1/2 の  $\beta$  細胞における受容体候補因子の選定も行った。結果、 $\beta$ CGFR の同定に成功した。同  $\beta$ CGFR 強制発現 PANC1/NIT1 細胞株の樹立にも成功した。同細胞株は再生活性が優位に高かった。よって、 $\beta$  細胞再生因子 ( $\beta$ CGF1/2) および再生因子受容体 ( $\beta$ CGFR) の同定に成功した。

平成30年度について

本30年度では同定した  $\beta$  細胞再生因子 ( $\beta$ CGF1/2) および再生因子受容体 ( $\beta$ CGFR) の  $\beta$  細胞における再生機能の同定に成功した。

主任研究者 今井 剛 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 (部長)

分担研究者

津川 陽司 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 (流動研究員)

伊藤美由紀 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 (特任研究員) (平成29年度のみ)

堤 元佐 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 (研究補助員) (平成28年度のみ)

ドクマイコイ 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部 (研究補助員) (平成29年度のみ)

研究期間 平成28年4月1日～平成30年3月31日

#### A. 研究目的

糖尿病患者の平均寿命は日本国民全体の平均寿命に比べて男性で約8歳、女性でも12歳程度、短いことが知られている。即ち、糖代謝不良により約10年寿命が縮まる。実際、日本人の多くは加齢に伴い膵臓  $\beta$  細胞は減少することがよく知られている。しかし、膵臓  $\beta$  細胞の再生因子の存在は知られていない。そのため、同因子の同定を試みている。もし、同定できれば、約10年程度の平均寿命の延伸が見込まれる。

糖尿病はその合併症が多く、いわゆる生活習慣病に加えて、各種ガン・認知症の罹患率も高い。その意味からも糖代謝を良好に保てれば、健康寿命の延伸が見込まれる。

#### B. 研究方法

3年間全体について

膵臓β細胞は唯一のインスリン分泌細胞である。そのため、インスリン分泌制御機構を研究する目的で、新規インスリン分泌制御因子の同定を行った。同因子は培養細胞・生化学・マウス遺伝学においてインスリン分泌を制御していることが判明した（投稿中）。

マウス遺伝学には大きく二つ存在する。一つはいわゆるノックアウトマウスに代表されるロス・オブ・ファンクションであり、もう一つは強制発現マウスに（いわゆるトランスジェニックマウス）に代表されるゲイン・オブ・ファンクションである。どうインスリン分泌制御因子は既知因子でそのノックアウトマウスは胎児期致死であることが判明しているため、β細胞特異的強制発現マウスを作成した。

その結果、同インスリン分泌制御因子強制発現マウスの1ラインは膵臓β細胞が増殖していた（約100倍程度）。しかし、インスリン分泌は正常であった。

そのため同因子はインスリン以外の分子（膵臓β細胞再生因子）の分泌制御も行っていることが判明したため、共沈する因子のLC/MSを行った。数ある共沈因子の中から、候補因子を2種類（βCGF1とβCGF2）選択した。βCGF1についての解析を培養β細胞ヒトPANC1/マウスNIT1を用いて行ったところ、βCGF1/2ともにPANC1/NIT1細胞再生活性が存在した。

また、βCGF1/2のβ細胞における受容体候補因子の選定も行った。結果、βCGFRの同定に成功した。同βCGFR強制発現PANC1/NIT1細胞株の樹立にも成功した。同細胞株は再生活性が優位に高かった。

平成30年度について

よって、本30年度でβ細胞再生因子（βCGF1/2）および再生因子受容体（βCGFR）の同定に成功した。

※複数年度の研究期間全体について記載し、その後に当該年度の分を記載すること。

（倫理面への配慮）

3年間全体について

培養細胞・生化学実験であり、マウス等の実験動物・人を用いていない。遺伝子組み替え等については、委員会に申請済み

平成30年度について

培養細胞・生化学実験であり、マウス等の実験動物・人を用いていない。遺伝子組み替え等については、委員会に申請済み。

## C. 研究結果

3年間全体について

$\beta$  CGF1 cDNA をクローニングして、強制発現ベクターを作成した。同ベクターをコントロールベクターと共に PANC1 および NIT1 細胞に導入した。さらには細胞株化を行った。同細胞株における  $\beta$  CGF の発現を確認した。

細胞増殖活性を解析すると、予想どおりコントロール細胞に比べて強制発現細胞株は優位に再生活性を有していた。

また、 $\beta$  CGFR についても同様の解析・結果を得た。

平成30年度について

よって、本30年度で $\beta$ 細胞再生因子 ( $\beta$  CGF1/2) および再生因子受容体 ( $\beta$  CGFR) の同定に成功した。

#### D. 考察と結論

※「D. 考察」、「E. 結論」としても差し支えないこと。

3年間全体について

$\beta$  CGF1/2 および  $\beta$  CGFR の培養  $\beta$  細胞株において再生活性を有していた。今後はマウス遺伝学を使って解析したい。

平成30年度について

$\beta$  CGF1/2 および  $\beta$  CGFR の培養  $\beta$  細胞株において再生活性を有していた。今後はマウス遺伝学を使って解析したい。

※複数年度の研究期間全体について記載し、その後に当該年度の分を記載すること。

※全体を通じてのみの記載で支障がない場合は、特に分けて記載する必要はない。

#### E. 健康危険情報

該当なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

平成30年度

1) Tsugawa Y, Handa H, and Imai T\*, Arginine induces IGF-1 secretion from the

endoplasmic reticulum, Biochem Biophys Res Commun, in press

2) Ando H, Sato T, Ito T, Yamamoto J, Sakamoto S, Nitta N, Asatsuma T, Shimizu N, Mizushima R, Aoki I, Imai T, Yamaguchi Y, Berk AJ, Handa H, Cereblon control of zebrafish brain size by regulation of neural stem cell proliferation, iScience Vol 15, May 2019, p95-108

3) Tsugawa Y, Hiramoto M, Imai T\*, Estrogen induces Estrogen Receptor  $\alpha$  expression and hepatocyte proliferation in the late pregnancy, Biochem Biophys Res Commun Volume 511, Issue 3, 9 April 2019, Pages 592-596

## 2. 学会発表

平成28年度

### 1) 若年性糖尿病原因因子の鍵と鍵穴

創薬研究会 2017、10月28日、東京工業大学 大岡山キャンパス 緑が丘6号館1階 緑が丘ホール

### 2) 内分泌・代謝学 共同利用・共同研究開発拠点セミナー

今井剛

$\beta$ 細胞再生活性を持った新規作用機序インスリン分泌促進剤及び $\beta$ 細胞再生因子-受容体の同定

群馬大学生体調節研究所平成28年6月10日

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得→国内、米国、英国、ドイツ

新たに同定したインスリン分泌制御因子を用いた抗糖尿病薬剤のスクリーニング法  
発明人：今井剛、半田宏

出願人：国立大学法人東京工業大学

優先権主張番号：特願 2010-196952

開示日：2010年11月1日

出願日：平成23年9月2日

出願番号：特願 2012-531980

登録日：平成28年2月12日

特許番号：特許第5881065号

PCT 出願番号：PCT/JP2011/070067

国際公開番号：WO2012/029958

米国にて特許成立 2015年5月12日

特許登録第9109043号(H27.8.18)

欧州（英・独）特許成立 2018 年 1 月 17 日

欧州登録番号 2612678

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし