

膵臓β細胞の増殖プロセスを時系列解析

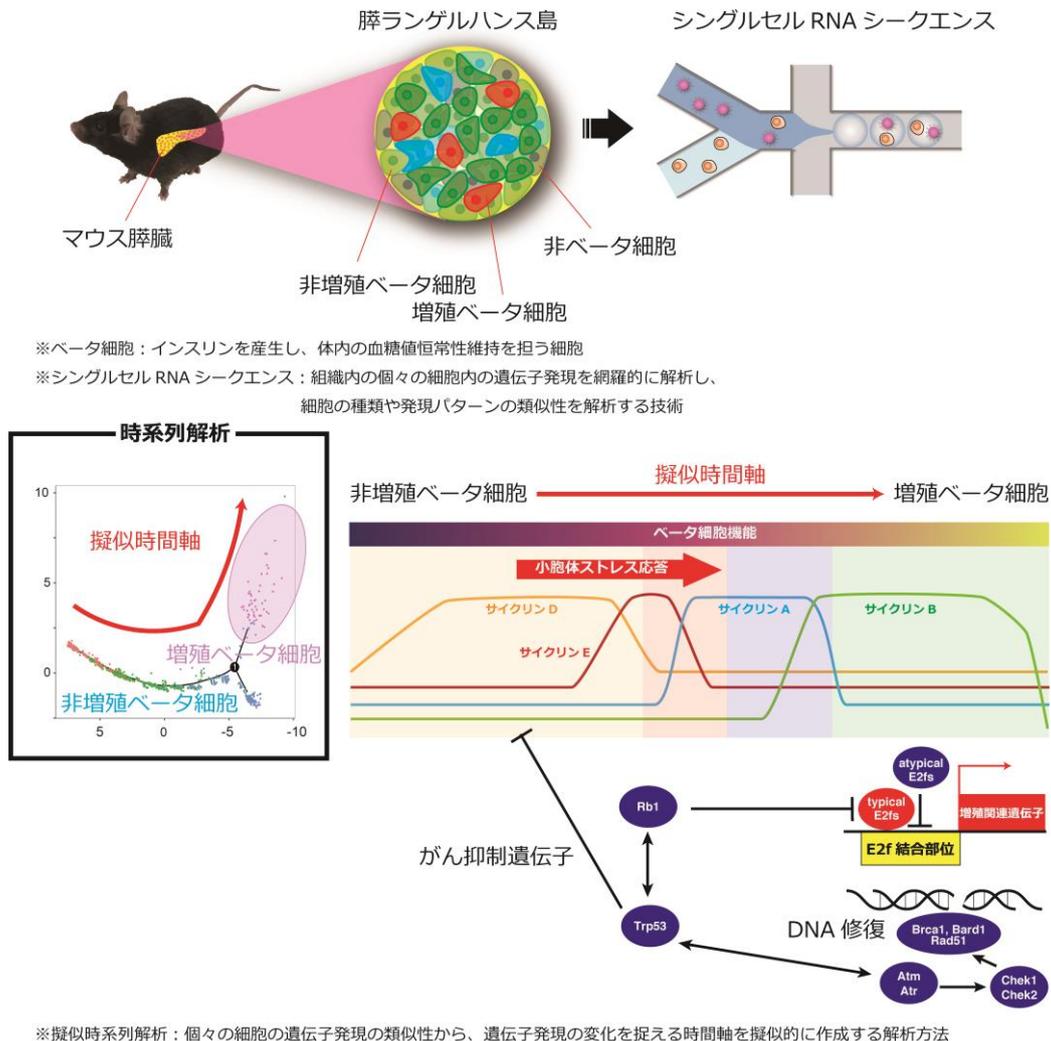
—糖尿病の新規治療開発に期待—

概要

京都大学大学院医学研究科 龍岡久登 特定助教、坂本智子 同研究員、渡辺亮 同特定准教授、稲垣暢也 同教授、岐阜大学大学院医学系研究科 矢部大介 教授らの研究グループは、膵臓のβ細胞が増殖するプロセスを一細胞レベルで解析することに世界ではじめて成功しました。

糖尿病状態ではインスリンを産生する膵臓β細胞の量が少なくなることから、その再生を誘導する治療法の確立が期待されています。一方で、β細胞以外にも複数の内分泌細胞がある膵臓では、β細胞だけに注目して解析することが困難でした。本研究では、β細胞の増殖が促されるモデルマウスの膵臓について、一細胞レベルで遺伝子発現を観察するシングルセル RNA シークエンスを行い、β細胞の増殖過程の詳細を解析しました。その結果、これまでに提唱されてきた増殖シグナルに加え、がん化を防ぐ遺伝子群が発現することが観察されました。増殖のみに注目されていたβ細胞の再生において、過剰な増殖を監視する機構が存在することでがん化を抑制している可能性が示唆されました。

本研究成果は、2020年12月18日に国際学術誌「iScience」23巻12号に正式版が掲載されました。



1. 背景

血糖値が慢性的に高い状態が続き、失明や透析、心筋梗塞や脳梗塞などの合併症を生じうる糖尿病の世界的な激増は深刻な問題です。糖尿病の成因の一つとして、血糖値を降下させるホルモンであるインスリンを産生する膵臓のベータ細胞の数が低下することが挙げられます。このベータ細胞を増殖させることができれば、糖尿病の新規治療法につながることを期待されています。例えば、増殖を促す遺伝子を捉え、その遺伝子の発現を亢進させることができればベータ細胞の増殖が促されることが期待できます。ベータ細胞が存在する膵臓内のランゲルハンス島(膵島)にはベータ細胞以外の内分泌細胞(ホルモンを産生する細胞)も存在します。また、ベータ細胞の中でも増殖している細胞の数はかなり少ないため、ベータ細胞が増殖するメカニズムを調べることはこれまで困難でした。そのため、膵島内の細胞における遺伝子発現を一細胞レベルで解析することが求められてきました。

2. 研究手法・成果

本研究では、膵臓の半分を切除することで、ベータ細胞の増殖を強力に誘導したマウスモデルを用意し、ベータ細胞を含む膵島内の細胞に対して、1細胞レベルで遺伝子発現を解析できるシングルセル RNA シークエンスを実施しました。まず、個々の細胞における遺伝子発現の状態から細胞種の同定を試みました。遺伝子発現プロファイルおよびベータ細胞のマーカー遺伝子である *Ins1* の発現パターンから、ベータ細胞、およびアルファやデルタ細胞などの内分泌細胞への分類が可能であることが示されました。さらに、細胞周期関連遺伝子の発現パターンから、増殖期に入っているベータ細胞を同定しました。また、遺伝子発現プロファイルから細胞状態の遷移を解析する擬似時系列解析によって、ベータ細胞における増殖停止期から増殖期への遷移に関与する遺伝子群を捉えました。例えば、小胞体ストレス応答や E2f ファミリー遺伝子などの増殖に関連する遺伝子が異なった時相で発現することや、がん化を抑制する遺伝子が過剰な増殖を抑える役割を果たしていることが示唆されました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、複数の細胞種が存在するために解析が困難だった膵島において、一細胞レベルの解析によってベータ細胞の個性を描写することに成功しました。特に正常な増殖におけるがん抑制遺伝子の役割を示したことは、がん化を抑制しながら増殖を促す戦略が必要であることを示唆しており、今後の創薬研究において考察すべき重要な分子基盤であると考えられます。この他にも、本研究が明らかにした ER ストレスを含む増殖に関与するシグナリングパスウェイは、今後の糖尿病の新規治療法の開発の一助となることを期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、下記機関より資金的支援を受けて実施されました。

- ・ 日本学術振興会 (JSPS) 萌芽研究・基盤研究 (C)・新学術領域研究(研究領域提案型)・挑戦的研究(萌芽)・若手研究
- ・ 科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業(CREST)
- ・ 日本糖尿病財団リリー・インクレチン基礎研究助成金
- ・ 鈴木謙三記念医科学応用研究財団 調査研究助成

なお、本研究は京都大学大学院医学研究科 糖尿病・内分泌・栄養内科 (稲垣暢也教授)、京都大学大学院医

学研究科 メディカルイノベーションセンター（渡辺亮特定准教授）、岐阜大学大学院医学系研究科（矢部大介教授）との共同で行われました。

<用語解説>

ベータ細胞：膵臓内の膵島という組織内に存在し、インスリンを産生する細胞。その機能の障害や量の低下が糖尿病の発症を引き起こすことが知られている。

遺伝子発現：DNA から特定の遺伝子が RNA に転写されること。転写された RNA は翻訳されタンパク質が合成され、細胞内で機能する。遺伝子発現のパターンで細胞種や細胞機能が異なっている。

ER ストレス：細胞内でタンパク質の品質管理を担う小胞体がストレス状態を感知するシステム。

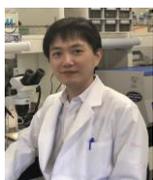
シングルセル RNA シークエンス：組織内の個々の細胞内の遺伝子発現を網羅的に解析し、細胞の種類や発現パターンの類似性を解析する技術

疑似時系列解析：個々の細胞の遺伝子発現の類似性から、遺伝子発現の変化を捉える時間軸を擬似的に作成する解析方法

<研究者のコメント>

膵ベータ細胞再生にはまだまだ不明の点が多いですが、本研究のように研究室間で連携し、革新的技術を積極的に取り入れることで、膵ベータ細胞の再生や、加齢により再生能力が落ちるメカニズムについて解明し、糖尿病の病態解明、新規治療に近づける大きな手応えを感じています。（龍岡久登）

シングルセル解析の魅力は、従来のバルク解析では捉えきれない個々の細胞の挙動を捉え、バイアスをかけず網羅的に解析できることです。本研究でも、予想もしなかった遺伝子の動きをあぶり出せたことから、膵ベータ細胞の再生メカニズムに迫ることができ、シングルセル解析は面白い！と再認識しました。（坂本智子）



<論文タイトルと著者>

タイトル：Single-cell Transcriptome Analysis Dissects the Replicating Process of Pancreatic Beta Cells in Partial Pancreatectomy Model（一細胞トランスクリプトーム解析により部分膵切除モデルにおけるベータ細胞の増殖プロセスを明らかにした）

著者：Hisato Tatsuoka, Satoko Sakamoto, Daisuke Yabe, Ryotaro Kabai, Unyanee Kato, Tatsuya Okumura, Ainur Botagarova, Shinsuke Tokumoto, Ryota Usui, Masahito Ogura, Kazuaki Nagashima, Eri Mukai, Yoshio Fujitani, Akira Watanabe and Nobuya Inagaki

掲載誌：iScience DOI：https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101774