

## 研究題目 糖尿病における膵β細胞のPP細胞への運命転換とその分子機構の解明

### 研究組織

研究代表者：藤谷与士夫（群馬大学生体調節研究所 分子糖代謝制御分野）

共同研究者：松久 宗英（徳島大学先端酵素学研究所 糖尿病診療分野）

#### 【1】研究の概要

##### [1-1]本研究の目的・概要

糖尿病状態においては、膵β細胞の機能不全が存在する。我々は糖尿病動物モデルにおいてβ細胞がPP細胞へと分化転換（脱分化）する可能性を見出している。本研究では、この可能性を①誘導性のPdx1欠損モデルと②ヒトの膵臓サンプルを用いて検証する。

##### [1-2]研究の方法・経過

本申請研究では、Pdx1遺伝子をマウスにおいて膵β細胞特異的に欠損もしくは、半減させたさいのβ細胞の系譜追跡を行ない、β細胞がPP細胞へと分化転換するかどうかを調べる。具体的には、MIP (mouse insulin promoter) -CreERT2: Pdx1<sup>flox/flox</sup>:Rosa26-YFPマウス（欠損させる場合）およびMIP-CreERT2: Pdx1<sup>flox/+</sup>:Rosa26-YFPマウス（半減させる場合）を作製し、Temoxifenを用いて誘導性にβ細胞をラベルしたうえで、Pdx1量を減少させることにより、β細胞がPP細胞やα細胞等のnon-β細胞へと分化転換するのかどうかを、膵頭部・膵尾部に分別して慎重に検討した。

#### 【2】研究成果

##### [2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

本研究に用いるMIP-CreERT2: Pdx1<sup>flox/flox</sup>:Rosa26-YFPマウスを解析した結果、β細胞からPP細胞への運命転換とβ細胞からα細胞への運命転換の双方が確認された。重要なことに、β細胞からPP細胞への運命転換はPdx1のヘテロのdeletionにおいても観察され、α細胞への転換はあまり観察されなかったことから、PP細胞への運命転換の方がPdx1のdose reductionに感受性が高いことが示された。ヒト組織については、対照4例、糖尿病患者4例の解析において、PP-Insulinの二重陽性細胞を運命転換の指標として解析を進めたが、糖尿病患者群において二重陽性細胞が増加するという現象は認められなかった。ヒト組織においては、マウスのようにlineage tracingの手法が適用できないため、運命転換の可能性を見落とす可能性も考えられる。

PP細胞は膵島細胞のごく一部を形成し、PP(pancreatic polypeptide)を産生する内分泌細胞であるが、その生理学的役割はよくわかっておらず、膵内分泌細胞のなかでも特に解析が遅れている細胞腫である。

研究の開始時点においては、PP 細胞の指標として PP (Ppy 遺伝子に code される)しか持ち合わせていなかったため、Ppy 以外の PP 細胞のマーカーの探索を進めることにした。その目的で本研究と並行して、8 週令の野生型マウス (C57BL/6) 膵島細胞の scRNA-seq を行ったところ、acinar, duct や immune cell を含む 16 の cluster に分類されることが示された。scRNA-seq において、PP 細胞の遺伝子発現プロファイルを明らかにすることができたが、その ID gene として Ppy, Pyy, Tspan8, Folr1 等が同定された。また、同じ解析において、 $\beta$  細胞は beta-1 (major population), beta-2, beta-3 という 3 つの cluster に分かれることが示されたが、この中の beta-2, beta-3 には Ppy 遺伝子が含まれること、他の遺伝子プロファイルから、beta-2, beta-3 は PP 細胞の発現プロファイルとオーバーラップすることが判明した。すなわち、これらは PP 細胞の性質を併せ持つ  $\beta$  細胞集団と考えられた。Ppy を発現する  $\beta$  細胞を Ppy-lineage  $\beta$  細胞と名付け non-Ppy-lineage  $\beta$  細胞との機能的差異の解析を進めたところ、Ppy-lineage  $\beta$  細胞は、成熟  $\beta$  細胞としての機能、とくにグルコース応答性のインスリン分泌が低下した  $\beta$  細胞の subpopulation であることが判明した。

PP 細胞特異的遺伝子の中から、Ppy-lineage  $\beta$  細胞を組織染色上で同定することが可能なマーカーとして TSPAN8 を同定した。これは  $\beta$  細胞の新たな脱分化マーカーとして利用可能であると考えられる。現在、糖尿病モデルマウスの膵島において発現細胞数の増加が見られるか、増加が認められるとすれば、経時的に増加するかを

観察している。その後、ヒトの組織切片にも適用したい。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

糖尿病患者の膵島において、どのような  $\beta$  細胞の病的変化が生じているのかが明らかになれば、糖尿病の病態の新たな治療法の開発につながる可能性がある。

### 【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表 1. Fukaishi T, ..., [Fujitani Y](#)\*. Characterisation of Ppy-lineage cells clarifies functional heterogeneity of pancreatic beta cells in mice. Diabetologia 64:2803-2816, 2021

2. Perez-Frances M, ....., [Fujitani Y](#), Thorel F, Herrera PL. Pancreatic Ppy-expressing  $\gamma$ -cells display mixed phenotypic traits and the adaptive plasticity to engage insulin production. Nat Commun 12:4458, 2021

[3-2]学会発表

1)藤谷与士夫「膵ラ氏島の残されたフロンティア-PP 細胞の生物学」第 94 回日本内分泌学会シンポジウム, 4 月 22 日, 2021 年  
2) 藤谷与士夫「PP 細胞から切り拓く膵島研究の新展開」徳島大学先端酵素学研究所 2021 年度共同利用・共同研究拠点成果報告会 2 月 4 日, 2022 年

[3-3]成果資料等

発表論文 (Fukaishi et al. Diabetologia 2021)

### 【4】今後の課題等

本研究を契機として PP 細胞寄りに変化した Ppy-lineage  $\beta$  細胞を同定し、免疫染色可能なマーカー TSPAN8 を同定した。この抗体は凍結切片においてしか機能し

ないため、ヒト臍検体に応用するためには、外科手術の際に採取した組織を凍結包埋したものを解析する等の工夫が必要となる。