

課題番号 29

## 時計蛋白質 CRY1 の転写因子制御機構の解析を基にした膵β細胞機能障害及び膵癌生成機序の解明

### [1] 組織

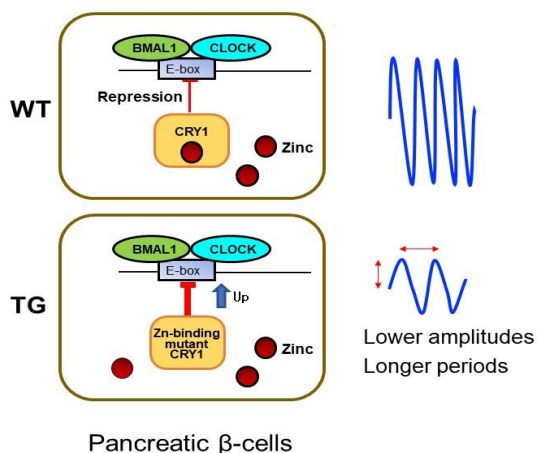
代表者：岡野 聡（山形大学医学部）  
 対応者：安井 明（東北大学加齢医学研究所）  
 分担者：五十嵐 雅彦（山形市立病院済生館）  
 中島 修（山形大学医学部）  
 佐藤 賢一（東北医科薬科大学医学部）  
 研究費：物件費 13 万円

### [2] 研究経過

本研究グループ(病院組織や大学の枠を超えた「クリプトクロム・時計遺伝子研究チーム」)では、分子時計の異常の影響を明らかにする目的で、亜鉛結合不全型 CRY1 が NF-κB 経路を含む種々のシグナル伝達に影響を及ぼし、マウス膵β細胞において細胞老化様変化を誘導することを示唆する結果を得て、2016 年のレビューで公表した [1]。罹病期間が長期に及ぶにつれ、膵臓に種々の病理学的な変化(膵ラ氏島のリモデリング、膵管異型病変の生成や発達)が生じることも示した [2]。膵管異型病変に関しては、特異な病変として、膵ラ氏島内に膵管細胞 (Intra-Islet Ductal Cell; 以下この病変を「IIDC」と称する)が高頻度に出現する[2]。IIDC に関しては、前癌病変であることは報告されているものの[3]、その機能的役割などの詳細は全く明らかになっていない。

CRY は転写抑制因子として、分子時計のフィードバックループにおいて転写抑制に働いていることが知られている。亜鉛結合不全型 CRY1 は、正常型 CRY1 と比較しリプレッサー能がより強くなり、概日リズムへの作用としては、振幅を低下させ、かつ周期を長くさせることが明らかにされている(下図、([4] 成果資料 総説 1)。

### Effect of zinc-binding deficient CRY1 on cellular circadian rhythms



亜鉛結合不全型 CRY1 の過剰発現マウス(TG と称する)は、β細胞が消失することを主因とする糖尿病を発症する。この分子機序として、代表者は、亜鉛結合不全型 CRY1 が NF-κB 経路を含む種々のシグナル伝達に影響を及ぼし、マウス膵β細胞において細胞老化様変化を誘導することを示唆する結果を得て、2016 年のレビューで公表した [1]。罹病期間が長期に及ぶにつれ、膵臓に種々の病理学的な変化(膵ラ氏島のリモデリング、膵管異型病変の生成や発達)が生じることも示した [2]。膵管異型病変に関しては、特異な病変として、膵ラ氏島内に膵管細胞 (Intra-Islet Ductal Cell; 以下この病変を「IIDC」と称する)が高頻度に出現する[2]。IIDC に関しては、前癌病変であることは報告されているものの[3]、その機能的役割などの詳細は全く明らかになっていない。

上述の種々の現象の解明に関連し、研究チームではβ細胞の障害に深く関わると推定されるタンパク質として、SFXN5 を新たに特定した。この蛋白質の機能解析はこれまでほとんど行われていない。SFXN5 はミトコンドリア以外に核にも局在することが報告されているが、特に核における機能については全く明らかにされていない。SFXN5 は核において、転写制御にも関与しているのではないかと考え、解析に着手している。

連絡状況については、例年どおり代表者が加齢研へ複数回出張し、安井明加齢研フェロー・名誉教授と菅野新一郎講師を中心とした加齢研チームと打ち合わせを行った。五十嵐雅彦 地域糖尿病センター長、佐藤賢一 消化器内科教授・東北医科薬科大学病院 病院長とはメールで打ち合わせを行った。早坂清 山形大学名誉教授・客員教授 (みゆき会病院小児科・本研究チーム相談役)とは、新型コロナウイルスの感染状況が落ち着いてきたことから、メールによる連絡に加えて、対面の意見交換会を山形市近郊にて実施した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

##### ① 培養細胞での解析

前年度報告書に述べた KPNA2, FAM98A の解析をさらに深化させることと並行して、SFXN5 を薬剤により強制発現させるヒト細胞の樹立を、加齢研チームが中心となり進めた。

## ② マウス固体レベルでの解析

令和2年度の共同研究報告書(No.10)及び文献[4]で報告した様に、レーザーマイクロダイセクションとDNAマイクロアレイを組み合わせた手法による解析を行い、高齢ステージのTGのラ氏島にてTff2 (Trefol factor family 2) 遺伝子の発現が亢進していることを明らかにした。さらに、TFF2タンパク質はβ細胞で発現していることを明らかにしている[4]。詳細については、月刊「細胞」誌に公表した、最新の拙和文総説も参照されたい([4] 成果資料総説1)。

今年度はTFF2と膵内分泌細胞の関係、及びマウスにおける膵内分泌細胞の相互運命転換の知見を得る目的で、TGのさまざまなステージの膵臓切片で、さらなる詳細な免疫二重染色実験を実施した。その結果、ソマトスタチンとインスリンの二重陽性細胞が、TGにおいて、高齢ステージになると出現することを示した。WTでは、調べた全てのステージで、ソマトスタチン-インスリン二重陽性の細胞は観察されなかった。これらの結果から、δ細胞とβ細胞間での相互転換が起こることが強く示唆された。

上述のように、TGのβ細胞ではTFF2が発現するが、今年度新たに、高齢ステージTGのソマトスタチン陽性細胞の中に、ごく一部ではあるが、TFF2を発現する細胞が存在することを見出した。代表者は、δ細胞がβ細胞へ転換しており、δ細胞の形質を併せ持つβ様細胞が、TFF2を発現するのではないかと推測している。

本成果は、82th ADA Scientific Sessions (2022)にて発表し、画像等の詳細はe-posterとして、ePosters Archives (<https://professional.diabetes.org/content-page/previous-scientific-sessions-abstracts-posters-and-webcasts>)から閲覧できますので、参照されたい(ePoster No. 1453-P, Okano S. et al., Possible delta to beta-cell transdifferentiation in aged diabetic mutant CRY1 transgenic mice)。

### (3-2) 波及効果と発展性など

代表者は、TGにおいては、その生涯の長期にわたる慢性高血糖下で、一定量の膵β細胞の量を維持するメカニズムが存在すると推察している。TGではβ細胞が減少し、膵ラ氏島あたりに占めるα細胞とδ細胞の比率が、WTと比較して増加する[4]。α細胞及びδ細胞は、β細胞の供給源としてなんらかの役割を果たすと考えられるが、今年度はδ細胞がその一端を担っていることを示唆する知見を得た。TFF2の役割の解明にはさらなる解析が必要であるが、おそらく残存β細胞及び新生β細胞の増殖促進に寄与しているものと考えられる。非β細胞からのβ細胞の供給メカニズムについて、現在さらなる解析を進めている。β細胞の新生

については、糖尿病の基礎分野で活発に研究が行われている”cutting edge”の研究分野であり、東北地域を横断したクリプトクロム・時計遺伝子研究チームによる本成果は、β細胞の供給源やその維持をめぐる仕組みの解明に、一定の貢献を果たしたものと思われる。

### 参考文献：

- [1] Okano S., J Diabetes Res., 3459246, 2016.
- [2] Okano S., et al., J Diabetes Res., 7234549, 2019.
- [3] Gidekel Friedlander SY et al., Cancer Cell. 2009.
- [4] Okano S. et al., 80th Scientific Sessions American Diabetes Association (ePoster No. 2057- P, 2020)

### [4] 成果資料 (学会発表)

1. 膵β細胞株 MIN6 の脱分化と上皮間葉転換, 岡野聡, 安井明, 菅野新一郎, 佐々木悠, 佐藤賢一, 五十嵐雅彦, 中島修, 第45回日本分子生物学会年会 (MBSJ2022) 2022年12月1日 日本分子生物学会
  2. Molecular circadian clock and epithelial mesenchymal transition-like phenotype in dedifferentiated pancreatic β-cell line MIN6 cells. 岡野聡, 安井明, 菅野新一郎, 佐々木悠, 佐藤賢一, 五十嵐雅彦, 中島修, 生物リズムに関する札幌シンポジウム 2022 2022年8月13日 一般財団法人 アシヨフ・ホンマ記念財団
  3. Molecular circadian clock and β-cell dedifferentiation in MIN6 cells. 岡野聡, 安井明, 菅野新一郎, 佐藤賢一, 五十嵐雅彦, 中島修, 第26回国際糖質学会・第53回日本膵臓学会大会 2022年7月7日
  4. 膵β細胞株 MIN6 の脱分化に伴う時計遺伝子と RGS 遺伝子の応答, 岡野聡, 安井明, 菅野新一郎, 佐藤賢一, 五十嵐雅彦, 中島修, 第22回日本抗加齢医学会総会 2022年6月18日 日本抗加齢医学会
  5. Possible delta to beta-cell transdifferentiation in aged diabetic mutant CRY1 transgenic mice. 岡野聡, 安井明, 菅野新一郎, 佐藤賢一, 五十嵐雅彦, 中島修, 第82回米国糖尿病学会 (ADA) 2022年6月6日 82nd Scientific Sessions American Diabetes Association (ADA) (ePoster No. 1453-P)
- (総説)
1. 亜鉛欠乏不全型 Cryptochrome の過剰発現は概日リズムの異常, 膵β細胞の分化転換及び膵癌前駆病変を誘起する. 岡野聡 月刊「細胞」2022年6月号 Page 410-420