



平成 25 年 12 月 16 日

報道機関 各位

熊本大学

**ES 細胞から成体と同等の能力を持つ
膵臓の細胞を作製
～糖尿病の治療へ新たな光明～**

本研究のポイント

○糖尿病患者への膵(すい)島（膵臓のランゲルハンス島細胞：体内の血糖を抑制する効果を持つホルモンであるインスリンを分泌する）移植は効果的な治療法であるがドナーが不足している。

○インスリンを産生・分泌する膵臓のβ細胞を ES 細胞（いろいろな組織に分化できる細胞）や iPS 細胞（ES 細胞と同様に様々な組織に分化できる細胞）から分化誘導することでドナー不足を補える可能性がある。

○これまでの研究では試験管内で分化誘導された膵臓のβ細胞はインスリンを分泌できても生体の膵島に比べられないくらい能力が低く、分化の効率も低かった。

○今回はマウスの ES 細胞を用いて、膵β細胞を分化誘導する効率を上昇させる低分子化合物とインスリンの分泌能力を高める低分子化合物をみつけた。

○上記の **2 種の低分子化合物を加えて誘導した膵β細胞は、生体の膵島と同等なインスリン分泌を示した。**

○糖尿病モデルマウスに移植すると血糖値が改善したことから、この知見をヒトの iPS 細胞に応用することができれば、糖尿病の移植医療の発展に飛躍的に貢献できる。

熊本大学の坂野大介助教、糸 昭苑教授らは、細胞質内に存在するモノアミン^{注1)}を小胞に取り込むトランスポーターの一種 Vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2)^{注2)}を阻害することで ES 細胞から膵β細胞への分化誘導効率が高まることを世界で初めて明らかにしました。

重篤な糖尿病では、移植医療が適応となりますが、現在のところドナー不足が大きな問題点となっています。そこで新たなインスリンの供給源として、ES 細胞^{注3)}や iPS 細胞^{注4)}から膵β細胞を誘導することに大きな期待が集まっています。このように再生医療に ES 細胞や iPS 細胞から作られる膵β細胞

を利用するためには、分化誘導効率が高いこと、血糖値に応じてインスリンを分泌する能力があること 2つの条件を満たす必要があります。

これまでの研究では ES 細胞、あるいは iPS 細胞から膵前駆細胞をある程度創ることが可能になってきたが、内分泌前駆細胞・β細胞への分化過程に関しては効率が低く、誘導されたβ細胞はグルコース濃度に応じてインスリンを分泌する機能が弱いことが問題点でした。

今回の研究では、低分子化合物の中から膵臓の内分泌細胞への分化を促進する VMAT2 を同定しました。VMAT2 は細胞内の小胞にモノアミンを取り込む働きを持つタンパク質です。VMAT2 を阻害すると、モノアミンが小胞に取り込まれずに、細胞質に存在する分解酵素によって分解されてしまいます。今回の結果から VMAT2 により細胞内の小胞に蓄えられているモノアミンが膵β細胞への分化を抑制することが明らかになりました。さらに今回の研究から、もう一つ化合物の細胞透過性 cAMP^{注5)} が膵内分泌前駆細胞から成熟なインスリン分泌能をもった膵β細胞に分化するように促進する作用があることを見出しました。この二つの化合物を添加して得られた膵β細胞はインスリン含量、インスリン分泌能において、成体膵島の能力とほぼ同等なものでした。

これらの結果は前述の再生医療に向け細胞が満たすべき2つの条件をクリアしており、糖尿病モデルの AKITA マウス^{注6)} への移植実験では血糖値が改善しました。今回の知見をヒト iPS 細胞を用いた分化誘導研究に応用することで、糖尿病治療にむけた研究が一層加速すると考えられます。

本研究は、2013年12月15日（英国時間）に英国科学雑誌『Nature Chemical biology』オンライン版に発表されます。

<論文名>

“VMAT2 identified as a regulator of late-stage beta cell differentiation.”
(VMAT2 による膵β細胞分化の制御)

<著者名>

坂野大介、白木伸明、木川和英、山添太土、片岡正光、梅田香穂子、荒木喜美、中瀬直己、松本志郎、遠藤文夫、桑昭苑（熊本大学）

Olov Andersson（カロリンスカ研究所／スウェーデン）

Didier Stainier（マックスプランク研究所／ドイツ）

Di Mao、上杉志成（京都大学）

桑和彦（熊本大学／名古屋市立大学）

<研究の背景と経緯>

ES細胞やiPS細胞はどんな細胞にでも分化する万能細胞として知られており、難病の原因究明、治療法の開発を目指した疾患研究、医薬品の安全性試験などへの利用、細胞製剤の開発などの創薬研究、神経や血液、組織や臓器の機能の修復や再生を目指した再生医療への応用が期待されています。ヒトiPS細胞による分化研究では神経幹細胞、心筋細胞、角膜細胞などは既に動物モデルでの移植実験が進められています。同じく糖尿病の治療においては、膵臓・膵島移植が抱える問題点であるドナー不足を解消することが求められています。

哺乳類の発生において、膵臓は胚性内胚葉、膵前駆細胞、内分泌前駆細胞を経てインスリンを産生するβ細胞へ分化します。従来のES・iPS細胞の培養手法は、様々な液性因子の連続的な添加によって膵β細胞を誘導していました。しかし、これらの分化誘導法は分化効率が低い上に組み換えタンパク質である液性因子を使用するため、再生医療への応用面では多くの課題を残していました。2009年以降、大量に合成でき安定的な物質である低分子化合物によって細胞分化を誘導する考えが広まり、多くの研究者が取り組んでいます。膵臓では低分子化合物の使用により内胚葉、膵前駆細胞への分化誘導法の効率化がはかられましたが、それ以降の膵内分泌前駆細胞、そして、膵β細胞への分化過程における研究は進んでいない状態でした。

<研究の内容>

本研究では、膵β細胞への分化を促進する化合物を探索するために、1120個の低分子化合物を含むライブラリーの中から、培地に添加しました。その結果、マウスES細胞から膵β細胞を誘導する過程で分化効率の上昇と膵β細胞が糖濃度に応じてインスリンを分泌する能力の獲得を促進する2つの化合物を見つけました。

VMAT2の阻害剤に膵臓のβ細胞を増やす効果があることを見出しました。VMAT2は細胞内小胞に存在するモノアミン量を調節する因子です。今回の研究でモノアミンにはβ細胞の分化を阻害する機能があったことから、VMAT2-モノアミンは発生過程で分化成熟するβ細胞数を調節する役割を担っているのではないかと考えています。

さらに今回の研究ではcAMPによるβ細胞の成熟化が促進され、生体の膵島と同様にグルコース濃度に応じたインスリン分泌が可能となりました。

<本研究の応用と今後の課題>

本研究により、膵臓の発生においてモノアミンによる分化の調節が存在することが初めて明らかになりました。マウスなどの実験動物でもヒトでもまだまだこのメカニズムに関しては不明な点が多く残されています。

ヒト iPS 細胞から膵β細胞を分化誘導し、ドナーに依存せず移植治療を可能にしていくうえで、今回得られた情報をいかに応用していくかが今後の課題です。

<参考図>

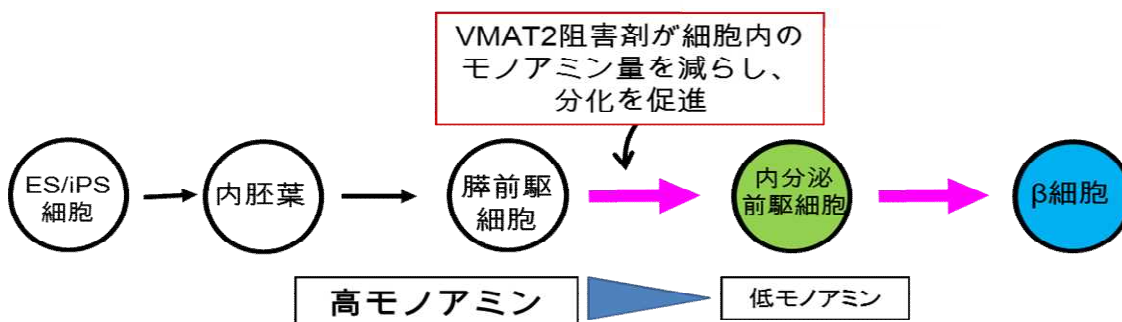


図 1 : VMAT2 阻害剤の効果:ES 細胞は内分泌細胞・膵前駆細胞・内分泌前駆細胞を経てインスリンを産生するβ細胞へと分化する。VMAT2 阻害剤を添加することで細胞外のモノアミン量が低下する。その結果、膵前駆細胞から内分泌前駆細胞が分化する過程が促進され最終的なβ細胞など内分泌細胞の誘導効率が上昇する。

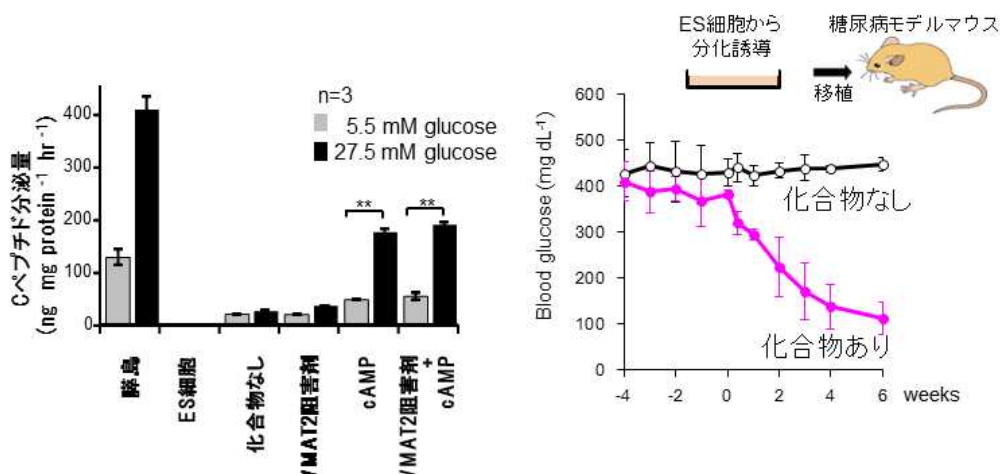


図 2 :cAMP によるβ細胞の成熟化と糖尿病モデルマウスへの移植

左図では cAMP を分化過程で添加することによりグルコース濃度に応じたインスリン分泌が可能となることを示している。右図は VMAT2 阻害剤と cAMP を用いて分化誘導したβ細胞を糖尿病モデルマウスに移植した後血糖値が改善していることを示している。

Vesicle Monoamine transporter 2 (VMAT2)

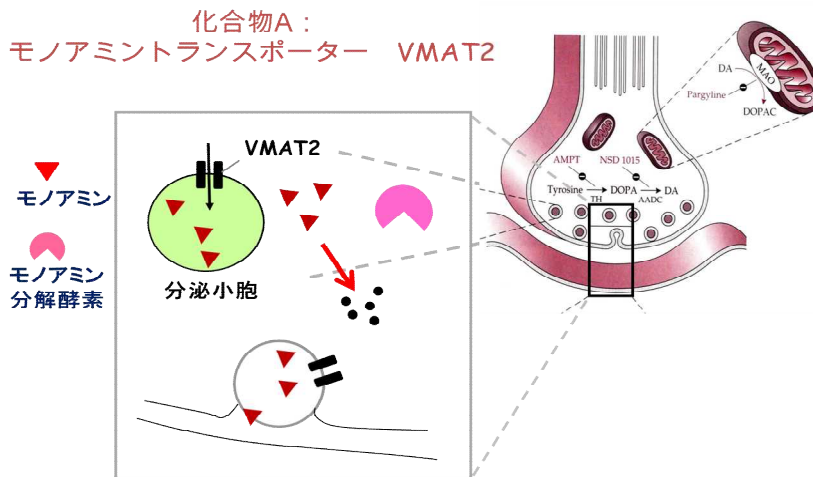


図3 VMAT2 とは

VMAT2 とは Vesicular Monoamine transporter 2 という分子で神経細胞の神経終末でのシグナル伝達物質の分泌を制御していることは広く知られている。

一方で膵臓ではヒトのβ細胞に存在することはよく知られており、糖尿病患者でのβ細胞量をはかる指標としても用いられることがある。

この VMAT2 タンパク質の持つ機能としては、細胞質内のモノアミン（ドーパミンやセロトニン、アドレナリンなど）を細胞内にある小さな顆粒の中に取り込む働きがある。細胞内顆粒に取り込まれない場合、モノアミンは Monoamine oxidase という酵素により分解されてしまう。顆粒内のモノアミンは何らかの刺激により細胞外へ放出され、放出した細胞自身や近接する細胞の細胞表面にある受容体で感知されることで細胞間シグナルを伝達すると考えられる。

今回我々が発見した化合物はこの VMAT2 に結合してモノアミンの細胞内小胞への取り込みを阻害する。取り込みが阻害されると細胞外へ放出されるモノアミンが減少するといった仕組みである。

膵前駆細胞から内分泌前駆細胞への分化をモノアミンが抑制する

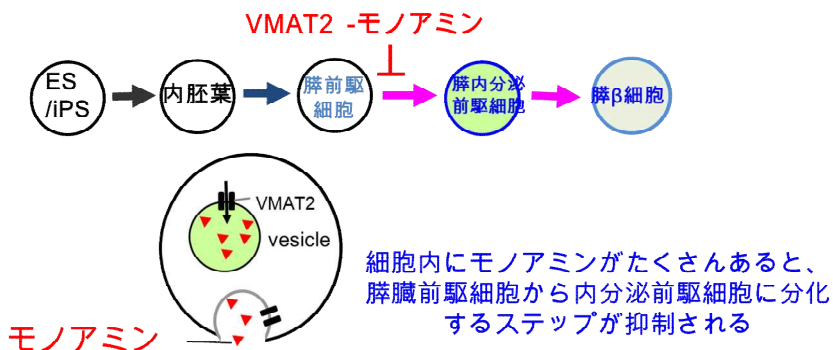


図4：膵前駆細胞から内分泌前駆細胞への分化をモノアミンが抑制する

当初、VMAT2 阻害剤が ES 細胞から膵β細胞への分化を促進することがわかったが、モノアミンが実際に細胞分化にどのように働きかけるかについては不明だった。マウス ES 細胞の分化過程でβ細胞になる途中の膵前駆細胞まで分化を進め、異なる濃度のモノアミンを培地に添加すると、分化誘導されるインスリン陽性細胞数が減少する。このことは、モノアミンによるシグナルが通常は膵β細胞への分化を抑制していることを示している。

<用語解説>

注 1) モノアミン

アミノ基を 1 個含む分子。ドーパミン・セロトニン・ヒスタミン・ノルアドレナリン・アドレナリンなどの生理活性物質の総称。

注 2) VMAT 2

VMAT2、モノアミントランスポーター 2 は、主として中枢神経系において細胞質から小胞内へのモノアミンの輸送を行うタンパク質です。ヒトの膵臓ではβ細胞に多く存在することが知られている。

注 3) ES 細胞

Embryonic stem cell、胚性幹細胞。さまざまな異なる細胞に分化し、増殖する能力を持つ、発生初期の胚由来の細胞。受精卵の一段階である胚盤胞から取り出した内部細胞塊から樹立される。ES 細胞の採取は受精卵を殺すことになるので倫理面の問題がある。

注 4) iPS 細胞

Induced pluripotent stem cell、人工多能性幹細胞。ES 細胞と同様に増殖して各種の細胞へと分化することが可能な細胞。平成 18 年（2006）、京都大学の山中教授らがマウスの体細胞に初期化因子とよばれる数種類の遺伝子を導入することで、初めて作製に成功。皮膚細胞などから作り出すことができるために倫理的問題がない。また、自分の体細胞から臓器などを作れば拒絶反応を回避できるため、再生医療への応用が期待される。

注 5) cAMP

環状アデノシン一リン酸、アデノシン三リン酸（ATP）から合成され、リボースの 3', 5' とリン酸が環状になっている分子。グルカゴンやアドレナリンといったホルモン伝達など細胞内の情報伝達に重要な分子。

注 6) AKITAマウス

秋田大学の小泉博士らにより 1997 年に発見された非肥満性の糖尿病モデルマウス。インスリン分子中のシステイン残基がチロシン残基へ変異（C96Y）している。A-B 鎖間分子内ジスフィド結合が形成されない変異プロインスリンは、小胞体品質管理機構により、小胞体からゴルジ装置へ輸送されず、細胞外に分泌されなくなる。

【問合せ先】

坂野 大介（サカノ ダイスケ）

熊本大学 発生医学研究所 多能性幹細胞分野 助教

桑 昭苑（クメ ショウエン）

熊本大学 発生医学研究所附属臓器再建研究センター長

発生医学研究所 多能性幹細胞分野 教授

〒860-0811 熊本県熊本市本庄 2-2-1 発生医学研究所 2 階

Tel: 096-373-6806, Fax: 096-373-6807

E-mail: dsakano@kumamoto-u.ac.jp（坂野）

skume@kumamoto-u.ac.jp（桑）