

[PRESS RELEASE]

2016年10月27日

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

糖尿病創薬に光-インスリン産生細胞の分化マーカーを2色の蛍光で標識したヒト iPS 細胞の開発

— β 細胞分化過程における Fibroblast Growth receptor 1 (FGFR1) の新たな役割を発見 —

【概要】

- 膵 β 細胞（インスリン産生細胞）の分化を追跡できるマーカーを2色の蛍光で標識したヒト iPS 細胞 (hIveNry) を作製しました。
- 薬剤スクリーニングにより FGFR1 阻害剤は膵 β 細胞の分化誘導を促進することを発見しました。
- この発見は、従来の FGFR1 シグナルが β 細胞分化に必須である常識を覆す成果です。
- FGFR1 シグナルのスイッチの ON と OFF を分化段階で精密に切り替えることが重要であることを証明しました。
- β 細胞分化過程のメカニズムの新たな一端を明らかにし、創薬または糖尿病の再生医療の実用化に繋がる可能性が期待されます。

以上のように、今回の研究では、hIveNry 細胞を用いて β 細胞分化促進因子のスクリーニングを行ったことにより、 β 細胞分化のメカニズムの新たな一端を明らかにすることが出来ました。

【発表者】

岡崎康司 : 埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター 所長

三谷幸之介 : 埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター 遺伝子治療部門 部門長

中西真人 : 国立研究開発法人産業技術総合研究所 創薬基盤研究部門

ヒト細胞医工学研究ラボ ラボ長

【研究の背景】

1型糖尿病は、自己免疫疾患によりインスリン産生細胞が破壊され、インスリンが欠乏すると高血糖状態が続き、腎症や失明などの合併症を引き起こす重篤な病気です。今日の1型糖尿病治療では、生涯にわたりインスリンを注射し続けるか、膵島の移植が主に行われています。

しかしながら、膵島の移植はドナーの不足や免疫応答の問題が解決されていないため、あまり普及していません。近年、その他の再生医療アプローチ法として期待されているのが、ヒト iPS 細胞や幹細胞からの β 細胞への分化、体細胞からのダイレクトリプログラミングによる β 細胞などがあります。

ヒト iPS 細胞からの分化誘導法は 2006 年に発生学を模倣した分化誘導法が報告されて以来、多くの報告がされています。しかし、臨床応用に達した分化誘導法は未だ確立されておらず、分化メカニズムにおいても不明点が多いです。そこで我々はヒト iPS 細胞から β 細胞への分化誘導法の改善をめざし、簡便に β 細胞を追跡できるシステムを樹立しました。

【研究の内容】

埼玉医大ゲノム医学研究センターでは、岡崎康司（所長）、三谷幸之介（部門長）及び産総研の中西グループらによって糖尿病治療の再生医療を目指しインスリン産生細胞膵 β 細胞の作製を目的に、2色蛍光ヒト iPS 細胞 (hIveNry) を開発しました。本細胞は、膵 β 細胞分化誘導時に分化過程を可視化できるようにしたものであり、 β 細胞を Venus（緑）、 β 細胞分化の前段階である内分泌前駆細胞を mCherry（赤）の蛍光が光るようヒト iPS 細胞にあらかじめゲノム編集により挿入して作製したものです。

本細胞を用いて β 細胞の分化誘導促進因子を探索するため薬剤スクリーニングを行ったところ、線維芽細胞増殖因子受容体 1 の阻害剤—fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1) inhibitor—が β 細胞分化に効果があることを証明しました。FGFR1 は膵臓発生初期段階においては重要であることは知られていましたが、本研究により β 細胞の分化過程の後半においては FGFR1 を阻害することで、効率良く分化誘導を進めることがわかりました。

本成果は、 β 細胞の分化には FGFR1 のシグナルが必須であるというこれまでの認識を覆すものであり、FGFR1 シグナルを介する分化誘導は分化の段階に応じて適切にスイッチングの On と Off の使い分けが大事であるということを示しました。本研究で開発した hIveNry 細胞システムは、一般の創薬スクリーニングや、 β 細胞の分化誘導法の改善に有効であると考えられ、糖尿病の再生医療への応用が期待されます。本研究は、私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（文部科学省）、科学研究費（文部科学省）、日本 IDDM ネットワーク、ならびに川野小児医学奨学財団の支援を得て行われました。

この研究成果は日本時間 10 月 27 日 18:00 に英国科学雑誌 (*Scientific Reports*) に発表されました。

< <http://www.nature.com/articles/srep35908> >

《本件に関するお問合せ先》

埼玉医科大学 ゲノム医学研究センター

所長 岡崎康司

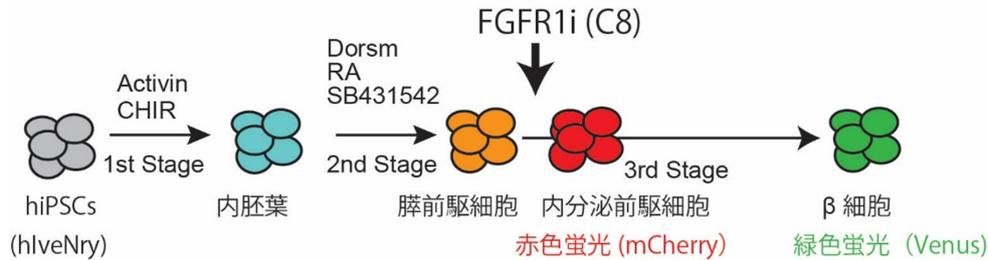
電話 : 042-984-0318

Fax : 042-984-0349

E-mail : okazaki@saitama-med.ac.jp

【添付資料】

A



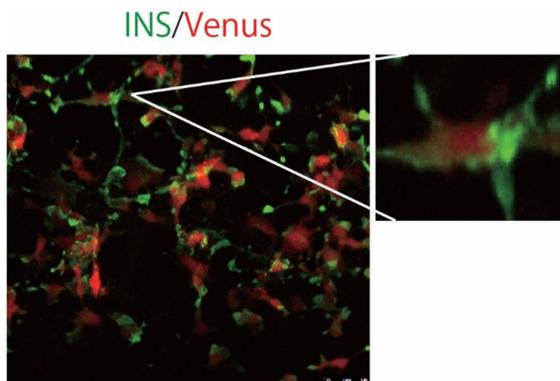
膵β細胞の分化誘導ステージの説明：1st stageではhiPS細胞から内胚葉への分化、2nd stageでは内胚葉から膵前駆細胞への分化（この直後に内分泌前駆細胞が現れる）最後に3rd stageでは膵前駆細胞から内分泌前駆細胞を経てβ細胞への分化が行われます。β細胞分化誘導時の3rd stageにFGFR1 inhibitorを添加することでβ細胞の分化効率を上げたことをhIveNryシステムを用いて見出しました。

B



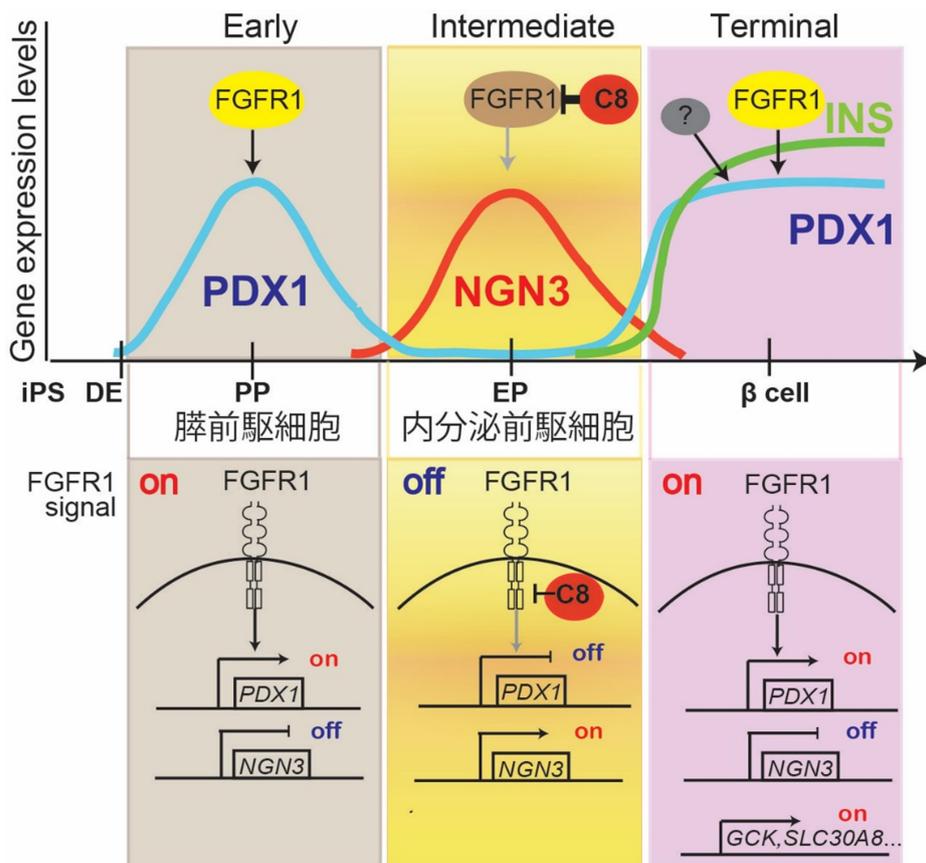
hIveNry細胞のβ細胞分化誘導時のライブイメージング：hIveNry細胞はβ細胞分化誘導時に蛍光が見える細胞です。すなわち、内分泌前駆細胞が現れる時期（膵前駆細胞の直後）には赤色の蛍光で、最終的にβ細胞に分化した細胞は緑色の蛍光（Venus）が見えるシステムです。

C



免疫染色図：β細胞をINS（緑）をanti-insulin抗体そしてVenus（赤）をanti-GFP抗体で染色し共局在を示します。レポーターのVenusはInsulinの発現と共に発現していることを示しています。

D



本研究の発見のモデル図：β細胞の分化誘導時に必須の遺伝子群があります。膵臓が発生するためにはPDX1遺伝子は必須です。そしてβ細胞やその他内分泌細胞の元となる前駆細胞に分化するためにはNGN3遺伝子が必要です。

しかし、PDX1の発現とNGN3の発現は相互排他的であることが知られています。すなわち、NGN3の発現はPDX1の発現が下がってこなければ発現してきません。このようなスイッチングをどのように制御しているのかは不明でした。

本研究ではその一端をFGFR1が担っていると提唱します。FGFR1はPDX1の発現を誘導することがこれまでの研究では知られていました。すなわち、膵臓発生初期には必要なシグナルであります。しかし、β細胞分化誘導後期における役割はこれまで知られておらず、FGFR1特異的阻害剤が分化誘導を促進したことから、FGFR1のシグナルを阻害してあげることで上記のようなスイッチングに貢献しているのではないかと考えられます。