The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Soluble T-cadherin promotes pancreatic β-cell proliferation by upregulating Notch signaling |
| Author(s) | 沖田, 朋憲 |
| Citation | 大阪大学, 2023, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/91802 |
| rights | |
| Note | やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

# 論　文　内　容　の　要　旨
# Synopsis of Thesis

| 氏　名<br>Name | 沖田　朋憲 |
|---|---|
| 論文題名<br>Title | Soluble T-cadherin promotes pancreatic β-cell proliferation by upregulating Notch signaling<br>(可溶性T-カドヘリンはNotchシグナルの増幅を介して膵β細胞の増殖を促進する) |

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

膵β細胞量を増加させる因子を発見することは糖尿病研究に強く求められている課題の一つである。T-カドヘリン(T-cad)は心血管、骨格筋等に発現し、アディポネクチン(APN)の特異的結合タンパク(Fukuda, et al. JBC 2017, Kita, et al. eLife 2019)としてエクソソーム産生を促進することを報告した(Obata, et al. JCI insight 2018)。最近、T-cadは可溶性T-cad(sT-cad)として血中にも存在することがわかってきた(Fukuda, et al. JCEM 2021)。GWASからT-cad遺伝子は糖代謝と強く関連する(Buniello, et al. Nucleic Acids Res 2019)が、メカニズムは不明であった。そこでT-cadと糖代謝の関連を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

T-cad exon2 flox/floxマウス(WT)とE2a-Creマウスを交配しT-cad欠損マウス(T-cad KO)を作製した。WT、T-cad KOに高脂肪食(HFD)を負荷し、耐糖能試験、膵組織の解析、RNA-seq法による単離膵島の遺伝子発現解析を行った。Streptozotocin(STZ)は低用量で頻回投与した。sT-cadの補充には肝特異的持続型発現ベクターpLIVE™のハイドロダイナミック法による導入を用いた。リコンビナントsT-cadタンパクはHEK293細胞の培養上清中に産生させ、特異的モノクローナル抗体で精製した。【結果】T-cad KOはWTと比較し、通常食摂餌では耐糖能に有意差はみられなかったが、6週間HFDを負荷すると有意な耐糖能異常を示した。インスリン負荷試験で差を認めなかった一方、T-cad KOは糖負荷15分後の血中インスリン、膵β細胞面積、膵インスリン含量が有意に低下し、単離膵島では膵β細胞の増殖に重要とされるNotchシグナル関連因子(Heyl、Dll4等)および細胞増殖関連遺伝子群(Ccnb1、Mki67等)の発現が低下しており、膵β細胞の代償性増殖の不全が示唆された。またSTZを負荷するとT-cad KOはWTより血糖が有意に上昇したが、APN KOマウスではWTとの差を認めなかった。血中エクソソーム量は既報(Obata, et al. JCI insight 2018)と同様にT-cad KOとAPN KOのいずれもWTに比べ有意かつ同程度に低下したため、T-cadが糖代謝を制御するメカニズムとしてエクソソーム以外の機序が考えられた。膵β細胞にT-cadの発現は認めなかったこと、WTの血中sT-cadは血糖上昇に伴い増加したことから、sT-cadの有無がT-cad KOの表現型を説明しうる可能性を想定した。そこでT-cad KOにsT-cadを補充すると、対照のT-cad KOと比べSTZ負荷時の血糖、膵インスリン含量が改善し、HFD負荷時の耐糖能、膵β細胞へのBrdU取込みが改善した。マウス単離膵島にリコンビナントsT-cadタンパクを添加して培養するとNotchの標的遺伝子や細胞増殖関連遺伝子の発現が増加し、この変化はNotchシグナル阻害薬DAPTの存在下で完全に抑制された。

〔総　括(Conclusion)〕

膵β細胞の増殖を制御する液性因子としてsT-cadを同定した。sT-cadはNotchシグナルを介する機構により膵β細胞増殖を促進すると考えられる。GWASにおいてもT-cad遺伝子は糖代謝と強く関連しており、sT-cadはヒトにおいても膵β細胞増殖を制御する因子である可能性が高い。sT-cadの産生制御や膵β細胞における受容体解析を含め、治療薬開発に向けて今後の研究の進展が期待される。

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　沖田　朋憲

| | | （職） | 氏　名 | |
|---|---|---|---|---|
| 論文審査担当者 | 主　査 | 大阪大学教授 | 下村伊一郎 | 署名 |
| | 副　査 | 大阪大学教授 | 熊ノ郷淳 | 署名 |
| | 副　査 | 大阪大学寄附講座教授 | 中神啓徳 | 署名 |

## 論文審査の結果の要旨

申請者らはT-カドヘリン欠損マウスを作製し、T-カドヘリンの糖代謝における重要性を検討した。高脂肪食負荷およびストレプトゾシン投与糖尿病モデルを用いてT-カドヘリンが膵β細胞の増殖に必要であることを示した。膵β細胞にT-カドヘリンの発現を認めなかったこと、ストレプトゾシンを投与した野生型マウスの血中可溶性T-カドヘリン濃度が投与前の約1.5倍に増加したことから、血中可溶性T-カドヘリンが液性因子として膵β細胞に作用する可能性を考え、T-カドヘリン欠損マウスに可溶性T-カドヘリンを補充したところ、ストレプトゾシン投与糖尿病が改善し、高脂肪食負荷時の膵β細胞増殖が促進された。また、膵島の遺伝子発現解析からT-カドヘリン欠損マウス膵島ではNotchシグナル関連遺伝子群の発現が低下していることを見出し、可溶性T-カドヘリンのリコンビナントタンパクがマウス単離膵島のNotchおよび細胞増殖関連遺伝子の発現を増加させることを明らかにした。今回の研究成果は膵β細胞を増やすことで糖尿病を根本的に改善する治療へ応用できる可能性があり、学位に値するものと認める。