

ヒト膵島を用いた糖尿病根本治療へ向けた トランスレーショナルリサーチ

白川 純

群馬大学 生体調節研究所 代謝疾患医科学分野
(受賞時：横浜市立大学医学部 内分泌・糖尿病内科学)

要旨：糖尿病治療の最終目標の1つは、インスリンを分泌する膵β細胞の機能および量を増大させることにより、糖尿病の発症・進展を抑制もしくは遅延させ、さらには糖尿病状態から回復させることである。自己免疫で膵β細胞が破壊される1型糖尿病だけでなく、日本人の糖尿病の9割を占める2型糖尿病においても、膵β細胞の量が減少しており、膵β細胞量を再び増やすことが糖尿病の根本治療になると考えられる。これより膵β細胞量を増加させる糖尿病治療開発がコンセンサスとなっており、世界中で膵β細胞量制御に関する研究が積極的に行われている。しかしながら、多くは遺伝子改変マウスなどの動物モデルやその膵島を用いた研究であり、ヒト膵β細胞量に関する報告はわずかである。ヒトとマウスでは、その解剖学的な構造や分子の発現パターン、さらには増殖制御機構を含め様々な点で異なることが報告されており、動物モデルの結果をそのまま臨床へ応用できる可能性は乏しい。すなわち、糖尿病の根本治療を展開するにおいて、ヒト膵β細胞の増殖、分化、アポトーシス、分化転換等の膵β細胞量制御機構を明らかにすることが必須である。本総説においては、ヒトの膵β細胞量の増大を目指した、ヒト膵島を用いた臨床に還元できる糖尿病治療研究について概説する。

Key words: 糖尿病 (diabetes), 膵島 (pancreatic islets), 膵β細胞 (pancreatic beta cells), ヒト膵島 (human islets)

はじめに

糖尿病はインスリン産生細胞である膵β細胞の機能障害により、もしくは膵β細胞障害とインスリン抵抗性との組み合わせにより発症することより、膵β細胞を置換もしくは再生させることが糖尿病の進展を抑制する鍵となる。それゆえ、糖尿病研究における膵β細胞および膵島研究の重要性は自明であるが、最近の研究によりヒト膵島とマウス等の実験動物の膵島は、形態、細胞組成、アミロイド線維の沈着等の病態形成、増殖能、遺伝子発現パターンなどが異なることが報告されている。そのため、基礎研究の臨床応用を考慮した際に、糖尿病研究におけるヒト膵島を用いた研究の重要性はより増してきて

いる。

I. 膵β細胞の容量 (膵β細胞量) の定義

動物モデルにおいてもヒトにおいても、糖尿病状態で膵β細胞機能低下に加えて膵β細胞量が低下していることは広く知られている。しかし、膵β細胞の厳密な定義にコンセンサスは存在せず、その実験系や研究により異なる。グルコース応答性やインスリン分泌能は失われていても、インスリンを細胞内に発現している細胞を膵β細胞とするか、膵β細胞を特徴づける転写因子等の遺伝子を発現しているものを膵β細胞とするか、同時にグルカゴンなどの他の膵内分泌ホルモンを産生しているイン

スリン産生細胞も膵β細胞としてよいか、など膵β細胞の定義も確立していない。このため、膵β細胞量の定量に関して明確な定義はなく、多くの報告では膵臓組織切片の免疫染色によるインスリン発現領域を膵β細胞として、膵組織全体に対する面積比が定量されている。また同じ面積比であっても膵体積により総膵β細胞量は異なるため、膵重量とインスリン陽性面積比を乗ずることにより、重量としての膵β細胞量が様々な報告で使用されている。しかし、染色の手法や、定量に用いる組織切片の範囲や数、膵重量の測定方法も報告により異なり、また、膵重量と面積比を乗じて求められた値が実際の膵臓内における膵β細胞量を反映しているかは今後の検討課題である。また、発光、PETやMRIなどを用いた生体内イメージングや膵臓の透明化による膵臓全体の可視化などによる膵β細胞量の定量も報告されているが、使用される抗体やプローブ、手法により結果も異なり、膵β細胞量の定量法についても世界中で精力的に研究されている。このように、膵β細胞の容量が糖尿病の病態や治療に密接に関与することは明らかであるが、その評価には注意を要する。

II. 糖尿病における膵β細胞量の変化

1型糖尿病では、自己免疫反応が惹起され、細胞性免疫および炎症性サイトカイン等による膵β細胞死が膵β細胞量低下の原因と考えられている。自己抗体出現時には膵β細胞量低下は認めず、糖尿病発症の直前より膵β細胞量の減少が認められる¹⁾。この膵β細胞量低下が自己免疫発症より遅れる理由として、自己免疫による傷害の大きさだけでなく、動物モデルで認められるような炎症に対する代償性の膵β細胞増殖も関与していると想定されている²⁾。また、膵β細胞量低下より前にインスリン分泌第一相の低下を認め、膵β細胞機能障害が先行すると考えられている。その後も、徐々に膵β細胞量は進行性に低下すると想定されているが、機能低下や脱顆粒した膵β細胞は残存し³⁾、経過50年以上の1型糖尿病例でもインスリン陽性膵β細胞が認められることも示されている⁴⁾。このため、わずかに残存した膵β細胞量を再び増やすことができれば1型糖尿病の根本治療にもつながると考えられる。

2型糖尿病の発症初期には、インスリン抵抗性や肥満に対して、代償性の膵β細胞機能亢進に加え膵β細胞量の代償性増加が、動物モデルだけでなくヒトでも認められ、その後、機能低下とともに膵β細胞量も低下すると考えられている。しかし、この膵β細胞量の一過性の増加や減少も、報告により大きく異なり、2型糖尿病における膵β細胞量減少は24%から65%とされている⁵⁾。初期

に見られる膵β細胞量の代償性の増加は、腺管細胞からの新生や膵β細胞の増殖などが想定されているが、ヒトでの膵β細胞新生や膵β細胞増殖の頻度は極めて低いため、それが膵β細胞量に実際に反映されてくるのには経時的な変化を考慮しなければならない。膵β細胞量低下の原因としては、膵β細胞のアポトーシスやネクロシスに加えて、増殖や新生の低下、脱分化や分化転換などが想定されている。2型糖尿病の発症・進展において、膵β細胞量の変化が、どの程度膵β細胞の機能低下に関与しているかは、個々の病態により大きく異なると考えられるが、少なくとも、2型糖尿病における膵β細胞機能障害を回復させる手段として膵β細胞量増大は1つの重要な選択肢となる。

III. ヒトと動物モデルとの膵島の差異

ヒト膵島はげっ歯類の膵島と比較して、生存率が悪く、より崩壊しやすく、平均サイズも小さく、インスリン含量や分泌量も少ないため、げっ歯類と同様の実験が困難なことも多い。さらに、ヒトとげっ歯類の膵島では形態も大きく異なり、げっ歯類では膵島細胞のうち80%前後を膵β細胞が占めているが、ヒトでは50%前後とされており、そのばらつきも非常に大きい^{6, 7)}。げっ歯類では中心部に膵β細胞が辺縁部に膵α細胞が分布しているが、ヒトでは膵β細胞および膵α細胞が膵島全体に散在している⁶⁾。また、ヒト糖尿病患者の膵島ではアミロイドの沈着が認められ、膵β細胞傷害の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられており、ヒトの組織学的研究と併行してヒト膵島アミロイドポリペプチド (human islet amyloid polypeptide: hIAPP) 発現トランスジェニックマウス等の動物モデルを用いた解析も積極的に行われている。膵β細胞の増殖や機能に関わるCdkやCyclin分子、グルコーストランスポーター (GLUT) やMAFBの発現もヒトとげっ歯類とは異なっている。δ細胞からのソマトスタチンの分泌を制御するUCN3は、ヒトではα細胞に発現しているが、マウスでは発現しておらず、非β膵島細胞でもその差異が明らかになりつつある⁸⁾。このようにヒト膵島は動物モデルと異なる点も多く、これらの課題を解決していかなければならない。

現在、ヒト膵β細胞機能および量の調節機構の解明のため、ヒト膵島を用いた研究やヒト疾患感受性遺伝子の機能解析、ヒト膵β細胞株を用いた研究、ヒト膵島を移植した実験動物を用いた研究、ヒト膵β細胞を幹細胞作成する研究が行われている。ヒトiPS細胞から機能的な膵β細胞様の細胞が大量に作成できることが既に報告され⁹⁾、新たなプロトコールも相次いで開発されている。しかし実際の2型糖尿病における膵β細胞は、神経の支

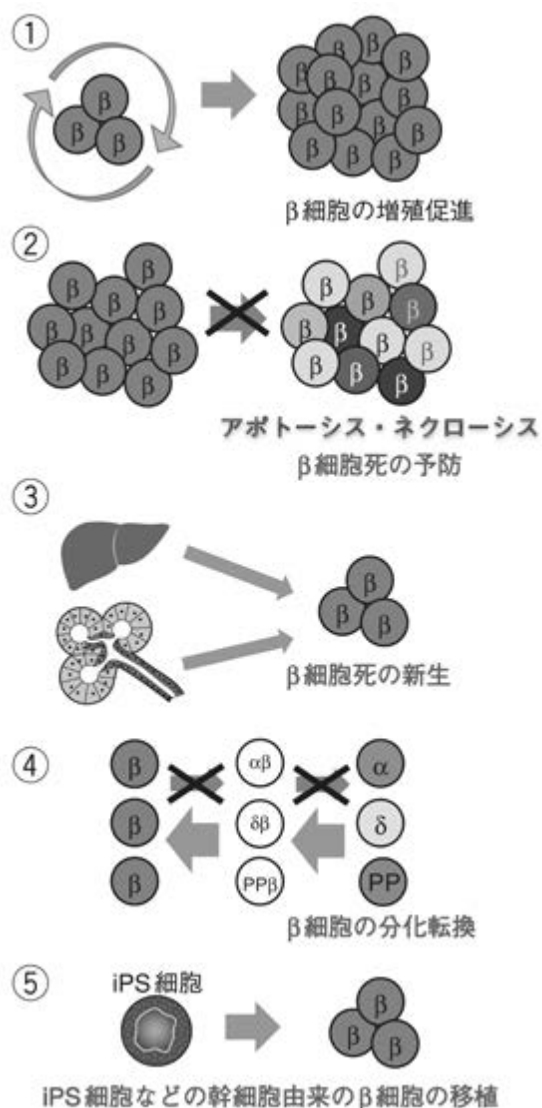


図1 膵β細胞量を回復させる治療戦略

①膵β細胞増殖の促進、②膵β細胞死（アポトーシス、ネクローシス）の抑制、③膵β細胞新生の促進、④膵β細胞の脱分化・分化転換の抑制、⑤幹細胞由来の膵β細胞の移植などが挙げられる。

配や臓器間の相互作用、さらには長期的な環境因子の蓄積による epigenetic な変化を受けているため、糖尿病患者由来の iPS 細胞で病態を完全に再現することはできず、糖尿病患者由来のヒト膵島を用いた研究も重要と考えられる。

最近ではヒト膵島およびヒト膵β細胞を用いた研究も発表され、動物モデルでの発見をヒト膵島で検証することが重要な課題となりつつある。2009年の時点で JAMA 誌に掲載された総説の conclusion では、「The use of human pancreatic islets can serve as a gold standard for the assessment of beta-cell function in the future, as clinical research advances toward a cure for diabetes.」と述べられている¹⁰⁾。欧米においても、ヒト膵島の使用はコストや流

通の面で問題はまだまだたくさんあるが、逆に膵β細胞研究においてヒト膵島を使用しないと研究費の獲得や科学論文の質に影響することまで既に言及されている¹¹⁾。

しかし、同時にヒト膵島や剖検組織だけでは解析できないことも非常に多く、これまで多くの膵β細胞の機能や量の調節機序は動物モデルや細胞株を用いて解明されてきている。このため、ヒトと動物モデルの両者の利点を活かした研究が重要になってくると考えられる。ヒトの膵臓には、320~1480万個の膵島が存在し、総体積は0.5~2 cm³と報告されている¹²⁾。膵臓内での膵島の分布は、均一とする報告と不均一であるという報告があり^{13, 14)}、また膵β細胞量調節に関わる増殖や脱分化などが膵臓内の分布で異なる可能性を我々は見出している。今後、このような膵臓内における膵島の不均一性に伴う機能の差異は、生体内での膵β細胞量調節機構の観点からも興味深いと思われる。

IV. 膵β細胞量調節の制御機構

1型糖尿病および2型糖尿病において認められる膵β細胞量低下に対して、膵β細胞量を回復させる治療戦略の例として、①膵β細胞増殖の促進、②膵β細胞死（アポトーシス、ネクローシス）の抑制、③膵β細胞新生（neogenesis）の促進、④膵β細胞の脱分化・分化転換の抑制、⑤幹細胞由来の膵β細胞の移植などが考えられる（図1）。

1つ目の膵β細胞の増殖を促進することにより膵β細胞量を増やす方法では、膵β細胞を増殖させる因子として、グルコース、ホルモン、神経性の調節、インスリン抵抗性、天然化合物や薬剤など様々な因子が報告されている。また最近では液性因子の候補として、臓器連関を媒介する新規ホルモンやエクソソーム、miRNA、腸内細菌叢の代謝産物なども報告され注目されている。その中でも動物モデルだけでなくヒト膵β細胞を増殖させる因子として、DYRK1A阻害薬（Harmine, 5-IT）、RANKL阻害薬（Denosmab）、GSK-3β阻害薬、TGFβスーパーファミリー/SMAD阻害薬、プロテアーゼインヒビターである SerpinB1 などにより、膵β細胞増殖が促進されることが報告されている¹⁵⁻¹⁷⁾（図2）。しかし、ヒト膵島を用いた研究では、マウスモデルに移植した場合でも、生体内での神経支配や臓器連関などが失われている場合があり、生体内での治療へ向けてはさらなる検証が必要となる。

2つ目として、アポトーシスやネクローシスなどの膵β細胞死を防ぐことにより膵β細胞量の低下を抑制し維

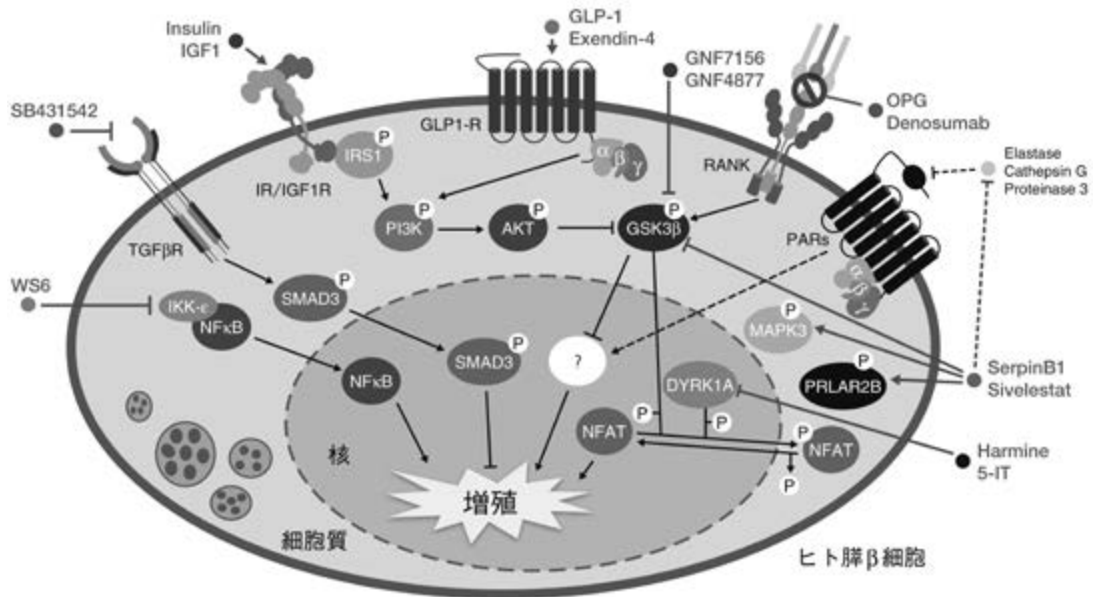


図2 ヒト膵β細胞の増殖促進因子

WS6によるIKK-εの阻害, SB432542によるTGFβRを介したSMAD3の活性化, インスリン/IGF-1受容体(IR/IGF1R)やGLP-1Rを介したシグナル, GNF7156やGNF4877によるGSK-3βの阻害, RANK/RANKLシグナルの阻害, DYRK1Aの阻害, プロテアーゼインヒビターであるSerpinB1のシグナルが, ヒト膵β細胞増殖を促進させることが報告されている。文献21より引用改変。

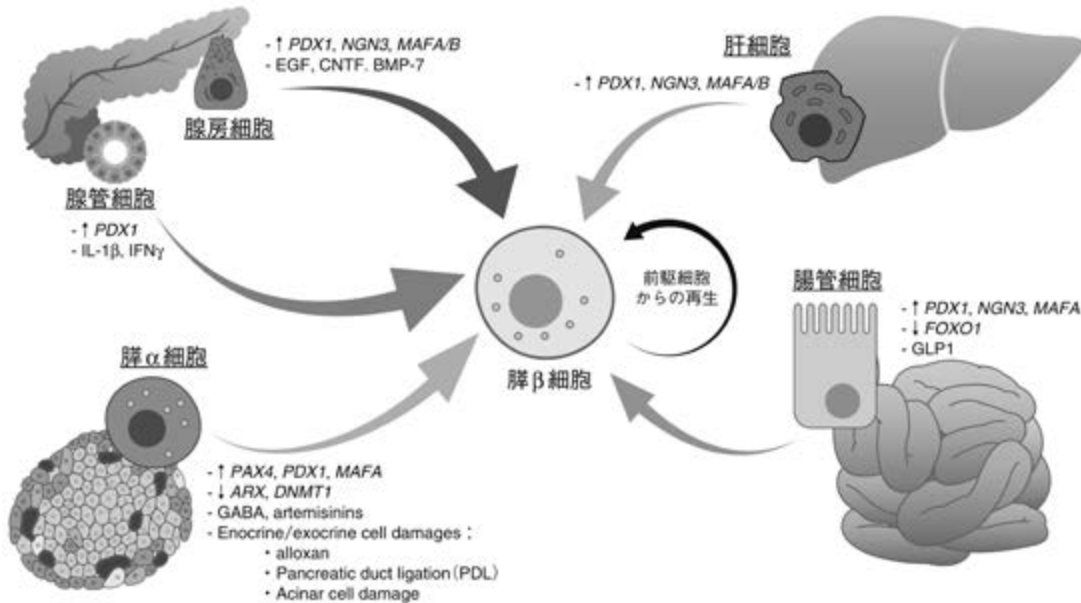


図3 膵β細胞の新生

膵β細胞の前駆細胞や膵臓の腺房細胞および腺管細胞, 肝細胞, 腸管細胞, さらには膵内分泌細胞から, 膵β細胞が新生することが示されている。文献21より引用改変。

持する方法が挙げられる。膵β細胞死を誘導する因子として, 高血糖によるglucotoxicity, 遊離脂肪酸によるlipotoxicity, 酸化ストレス, 小胞体ストレス, 虚血(低酸素), オートファジー障害, 炎症, 老化, ミトコンドリア障害, およびアミロイドの蓄積などが想定されている。

これらの因子は, 糖尿病の病態では複合して同時に生じ, 相互に作用していると考えられる。たとえば, hIAPPの蓄積に, オートファジー障害が関与することが示されている¹⁸⁻²⁰。また, 膵β細胞の増殖と細胞死は表裏一体であると考えられ, 糖尿病状態では代償性の増殖促進そのも

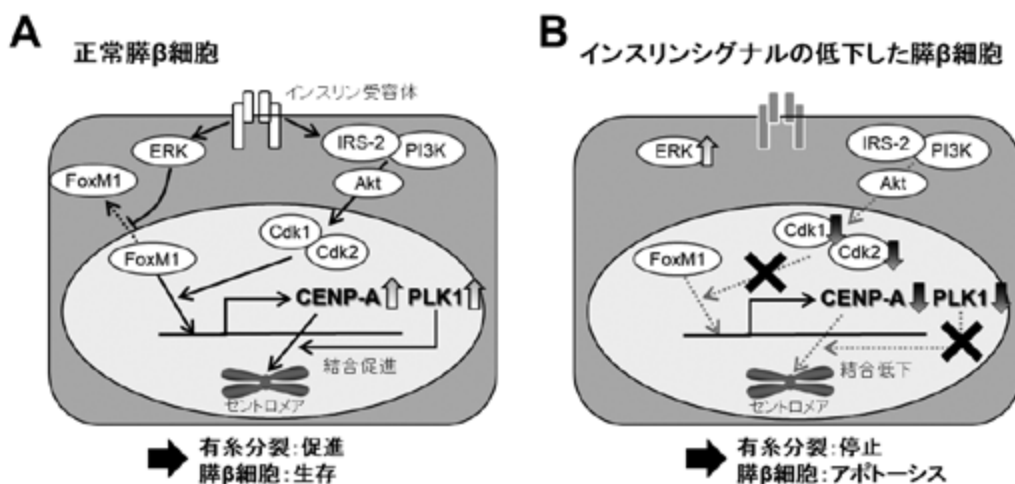


図4 FoxM1/PLK1/CENP-A経路を介した膵β細胞量制御

(A) 膵β細胞において、インスリン刺激により、ERKがFoxM1の核内移行を促進し、一方でPI3キナーゼを介したインスリンシグナルが、Cdk1/2を介してFoxM1のCENP-AおよびPLK1遺伝子領域へのDNA結合を促進することにより、CENP-AおよびPLK1の発現を増加させる。その結果、CENP-Aのセントロメア領域への会合がPLK1により増強され、有糸分裂が促進される。(B) インスリンシグナルが低下した膵β細胞では、FoxM1が核内で活性化されず、FoxM1/PLK1/CENP-A経路の低下により代償性の膵β細胞増殖が障害される。2型糖尿病における膵β細胞量低下にもこれらの機序が関与している可能性がある。文献32より引用改変。

のが細胞死を引き起こす原因となっているかもしれない。

3つ目として、非膵β細胞から新たにリプログラミングされ、膵β細胞が新生されれば膵β細胞量は増加すると考えられる。膵β細胞の新生は、膵β細胞の前駆細胞と考えられる細胞や、膵α細胞などの膵島細胞、膵臓の腺房細胞ならびに腺管細胞からのインスリン陽性細胞へのリプログラミングが数多く報告されており、また肝細胞や消化管細胞からのインスリン陽性細胞の新生も示されている²¹⁾(図3)。これらの多くの膵β細胞新生は、遺伝子導入による転写因子の発現誘導により惹起されており、細胞特異的に生理的に転写因子を誘導する方法の開発が望まれる。

4つ目として、動物モデルだけでなく、ヒトの糖尿病においても膵β細胞の脱分化および膵α細胞への分化転換が起こっていることも報告されており、これらを抑制することも膵β細胞量の保護につながると考えられる^{22, 23)}。膵β細胞の脱分化は、膵β細胞死と同様に、糖毒性や小胞体ストレス、酸化ストレス、虚血、炎症などを介して、膵β細胞の特徴的な分子の発現低下、健全な膵β細胞で発現が抑制されている分子の誘導、および前駆細胞に関連する分子の誘導によると考えられている。また、膵β細胞が膵α細胞、膵δ細胞、膵PP細胞へ分化転換する際に、どの細胞に分化転換するかという膵β細胞の運命決定機構は不明であり、非常に興味深い課題である。さらに、一度、脱分化を経てから分化転換するのか、それとも2つのホルモンを産生する細胞を経て分化転換

するのかについても議論が分かれており、今後のさらなる研究の進展が期待される。

5つ目に、外来性に膵β細胞を増やす方法として、ES細胞やiPS細胞などの幹細胞から分化誘導した膵β細胞を移植する方法が期待されている。実際に、ヒトの幹細胞由来の膵β細胞の効率的な作成法および細胞系譜の特徴が報告されている^{9, 24)}。また、膵β細胞や膵島では移植後の生着能や機能維持が乏しいため、異種間の体内での膵臓そのものの作成や、膵臓を含んだ周辺臓器を再現するオルガネラの作成が報告されており^{25, 26)}、外科手術は必要になるが臨床応用への道が開かれている。

V. CENP-A/PLK1/FoxM1経路を介したヒト膵β細胞の代償性増殖機構

膵β細胞は、最も高度に分化した細胞の1つであり、成体においてほとんどの膵β細胞は静止期、すなわち細胞周期のG0期にある。インスリン等の増殖因子はG0期からG1期への移行促進やG1/Sチェックポイントの制御に関与していることが報告されているが、それ以降のG2/M期に関しては、その調節機構は不明であった。G2/Mチェックポイントは、糸状分裂の進行やアポトーシス等、細胞運命を決定する重要な細胞周期である。膵β細胞のインスリン受容体を介したシグナルは、高脂肪食負荷や肝臓特異的インスリン抵抗性モデルにおける代償性膵β細胞増殖に必須である^{27, 28)}。2型糖尿病患者のヒト膵島においても、このインスリン受容体を介したシグ

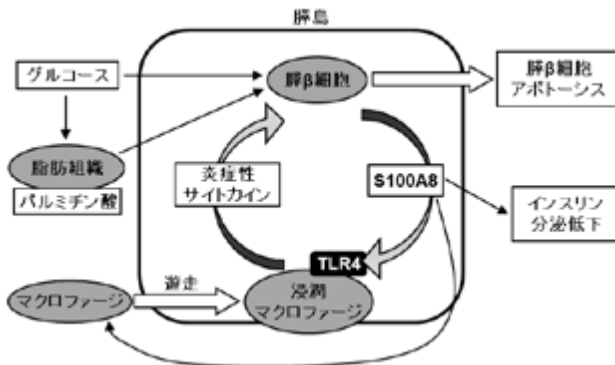


図5 膵β細胞とマクロファージの相互作用によるS100A8を介した膵島炎症

糖尿病では、高血糖によるグルコース刺激、内臓脂肪肥大による遊離脂肪酸刺激、膵島へのマクロファージ浸潤が生じ、これらの組み合わせによりTLR4に非依存的に膵β細胞でS100A8が誘導される。膵β細胞由来のS100A8は、TLR4を介してマクロファージを活性化することにより炎症性サイトカイン産生を誘導し、膵β細胞障害を引き起こすという悪循環を形成する。文献36より引用改変。

ナルの低下が報告されている^{29, 30)}。

我々は、マウスモデルにおいて膵部分切除後の膵β細胞増殖が、主にG2/M期による細胞周期調節により制御されていることを発見し報告してきた³¹⁾。そこで、G2/M期に着目し、CENP-A/PLK1/FoxM1経路によるG2/M期の細胞周期促進が、インスリン受容体を介した代償性のヒト膵β細胞増殖において重要であることを報告した³²⁾(図4)。さらに、この経路がインスリン受容体に非依存的な経路を介した膵β細胞増殖にも関与していることを見出している。2型糖尿病患者のヒト膵島においても、これらの分子の発現誘導が非糖尿病群のヒト膵島と比較して低下しており、またPLK1の遺伝子変異が家族性糖尿病の原因遺伝子である可能性も示された。興味深いことに、インスリン受容体シグナルによるCENP-AやPLK1の活性化は膵β細胞特異的であり、他の組織では同様な発現誘導を認めなかったことより、他臓器に作用することなく膵β細胞特異的に増殖を促進できる可能性が期待される。

VI. 糖尿病における膵島の炎症

糖尿病も、肥満とともに慢性炎症が病態に関与することが知られている。ヒト2型糖尿病の膵島においてもマクロファージなどの炎症細胞浸潤を認め、膵島における炎症が、1型糖尿病だけでなく2型糖尿病においても、膵β細胞障害の原因の一つであると考えられている³³⁾。Maらは³⁴⁾、アラキドン酸代謝酵素である12-リポキシゲナーゼの阻害薬により、炎症性サイトカインを添加した非糖尿病ドナーの膵島や2型糖尿病患者の膵島において、

インスリン分泌等の膵島機能が保護されることを報告している。Gerstらは³⁵⁾、膵組織内の脂肪細胞とヒト膵島を共培養することにより、脂肪細胞由来のパルミチン酸やfetuin-Aが膵島における炎症性サイトカイン産生を惹起し、局所炎症による膵β細胞機能障害の原因となる可能性を示している。

我々は、糖尿病状態と同じ環境下である、高グルコース、遊離脂肪酸であるパルミチン酸、およびマクロファージと、マウス単離膵島との共培養により、damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs)が膵β細胞で相乗的に誘導されることを発見した。さらに、DAMPsの中でもS100A8という分泌タンパクがマクロファージと相互作用し、膵島炎症を介して膵β細胞アポトーシスを誘導することを見出した³⁶⁾(図5)。ヒト膵島においても、ヒト単球細胞株U937との共培養で、マウス単離膵島と同様にS100A8が誘導されることを確認した。さらに我々は、このS100A8の受容体であるTLR2とTLR4も膵β細胞量の制御に関与していることも報告した³⁷⁾。現在、膵β細胞特異的にS100A8を欠損した動物モデルを作成し、ヒト膵島とともに解析しており、炎症を介した新たな膵β細胞量の制御機構が明らかになりつつある。今後、DAMPs等を介した膵島炎症の制御による膵β細胞保護が糖尿病治療につながることを期待される。

VII. 本邦における膵島研究の現状

研究用に単離ヒト膵島を提供しているプログラムとして、米国のIntegrated Islet Distribution Program (IIDP)、カナダのアルバータ大学Clinical Islet Laboratory (CIL)、英国オックスフォード大学のJDRF UK Islets for Basic Research program、またはヨーロッパのEuropean Consortium for Islet Transplantation (ECIT)におけるIslets for Basic Research Program等が挙げられる。それ以外にも研究用にヒト膵島を提供している企業もいくつかあり、培養ヒト単離膵島の購入が可能である。しかし、欧米においてもヒト膵島の各研究者への分配は不十分な状態であり、コストや流通の面で問題が残されている。

日本においても限定的ではあるが、海外からヒト膵島を入手することは可能であるが、倫理申請の問題や、輸送期間による生存率や機能の低下やコストの問題が挙げられる。我々は、2017年にヒト臨床研究としてヒト膵島を用いた研究を申請し承認され、カナダおよびアメリカからドナー由来のヒト膵島を輸入し、本邦においてヒト膵島研究を展開している。このように、コンスタントにヒト膵島を本邦で使用しているグループはわずかである。

欧米人では非糖尿病群において膵β細胞量は、BMIとの間に有意な正の相関が示されている³⁸⁾。しかし、日本人においては、膵β細胞量がBMIと相関せず、肥満例でも膵β細胞量は増加しない可能性が示唆されている³⁹⁾。やせ形で糖尿病を発症する日本人2型糖尿病では欧米人と比較して、個々の細胞機能と細胞総量で規定される「ネット膵β細胞機能」が低下しており、同じ2型糖尿病でもインスリン分泌量が日本人では顕著に低いことが多いの研究から明らかにされてきた。それらを鑑みると、日本人の膵島は、欧米の膵島と異なる機能や増殖能を示すことが予想される。そのため、本邦における糖尿病治療開発においては、日本人ヒト膵島を用いた研究が必要であるが、現状では日本人ヒト膵島の使用は未だ困難である。法律や倫理的側面等に十分に配慮しつつ、日本でも実現可能な日本人ヒト膵島をもちいた研究を推進するためのプログラムが構築されることが求められている。

おわりに

糖尿病研究において膵β細胞の研究、中でもヒト膵島を用いた研究が、糖尿病治療応用にむけたトランスレーショナルリサーチを実践していく上で、さらなる発展を遂げていくであろう。その中で、日本人と欧米人との膵島機能の違いを明らかにしていくことは臨床的に非常に興味深いと思われる。日本人の膵β細胞量を制御する糖尿病治療へ向けて、日本人ヒト膵島の使用が必須であり、その実現に向けて、学会横断的なワーキンググループなどを通じて議論を進めていきたい。

謝 辞

この度は横浜市立大学医学会賞という栄えある賞を頂き、医学会・倶進会の先生方、事務局のみなさまをはじめ、選考に携わってくださったすべての皆様にご心より感謝申し上げます。また、本研究は、横浜市立大学大学院医学研究科分子内分泌・糖尿病内科学主任教授の寺内康夫先生を中心に、横浜市立大学の多くの先生方の御指導・御支援を得て行われました。紙面をお借りし重ねて厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Herold KC, Usmani-Brown S, Ghazi T, et al.: beta cell death and dysfunction during type 1 diabetes development in at-risk individuals. *J Clin Invest*, **125** (3) : 1163–1173, 2015.
- 2) Sherry NA, Kushner JA, Glandt M, Kitamura T, Brillantes AM, Herold KC: Effects of autoimmunity and immune therapy on beta-cell turnover in type 1 diabetes. *Diabetes*, **55** (12) : 3238–3245, 2006.
- 3) Akirav E, Kushner JA, Herold KC: Beta-cell mass and type 1 diabetes: going, going, gone? *Diabetes*, **57** (11) : 2883–2888, 2008.
- 4) Keenan HA, Sun JK, Levine J, et al.: Residual insulin production and pancreatic ss-cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin Medalist Study. *Diabetes*, **59** (11) : 2846–2853, 2010.
- 5) Chen C, Cohrs CM, Stertman J, Bozsak R, Speier S: Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Mol Metab*, **6** (9) : 943–957, 2017.
- 6) Cabrera O, Berman DM, Kenyon NS, Ricordi C, Berggren PO, Caicedo A: The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103** (7) : 2334–2339, 2006.
- 7) Eizirik DL, Pipeleers DG, Ling Z, Welsh N, Hellerstrom C, Andersson A: Major species differences between humans and rodents in the susceptibility to pancreatic beta-cell injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **91** (20) : 9253–9256, 1994.
- 8) van der Meulen T, Donaldson CJ, Caceres E, et al.: Urocortin 3 mediates somatostatin-dependent negative feedback control of insulin secretion. *Nat Med*, **21** (7) : 769–776, 2015.
- 9) Pagliuca FW, Millman JR, Gurtler M, et al.: Generation of functional human pancreatic beta cells in vitro. *Cell*, **159** (2) : 428–439, 2014.
- 10) Kaddis JS, Olack BJ, Sowinski J, Cravens J, Contreras JL, Niland JC: Human pancreatic islets and diabetes research. *JAMA*, **301** (15) : 1580–1587, 2009.
- 11) Kulkarni RN, Stewart AF: Summary of the Keystone islet workshop (April 2014) : the increasing demand for human islet availability in diabetes research. *Diabetes*, **63** (12) : 3979–3981, 2014.
- 12) Da Silva Xavier G: The Cells of the Islets of Langerhans. *J Clin Med*, **7** (3) : 54, 2018.
- 13) Ionescu-Tirgoviste C, Gagniuc PA, Gubceac E, et al.: A 3 D map of the islet routes throughout the healthy human pancreas. *Sci Rep*, **5** : 14634, 2015.
- 14) Wang X, Misawa R, Zielinski MC, et al.: Regional differences in islet distribution in the human pancreas--preferential beta-cell loss in the head region in patients with type 2 diabetes. *PLoS One*, **8** (6) : e67454, 2013.
- 15) Wang P, Karakose E, Liu H, et al.: Combined Inhibition of DYRK 1 A, SMAD, and Trithorax Pathways Synergizes

- to Induce Robust Replication in Adult Human Beta Cells. *Cell Metab*, **29** (3) : 638 – 652 e5, 2019.
- 16) Shirakawa J, Kulkarni RN: Novel factors modulating human beta-cell proliferation. *Diabetes Obes Metab*, **18** Suppl 1 : 71 – 77, 2016.
 - 17) El Ouaamari A, Dirice E, Gedeon N, et al.: SerpinB 1 Promotes Pancreatic beta Cell Proliferation. *Cell Metab*, **23** (1) : 194 – 205, 2016.
 - 18) Shigihara N, Fukunaka A, Hara A, et al.: Human IAPP-induced pancreatic beta cell toxicity and its regulation by autophagy. *J Clin Invest*, **124** (8) : 3634 – 3644, 2014.
 - 19) Kim J, Cheon H, Jeong YT, et al.: Amyloidogenic peptide oligomer accumulation in autophagy-deficient beta cells induces diabetes. *J Clin Invest*, **124** (8) : 3311 – 3324, 2014.
 - 20) Rivera JF, Costes S, Gurlo T, Glabe CG, Butler PC: Autophagy defends pancreatic beta cells from human islet amyloid polypeptide-induced toxicity. *J Clin Invest*, **124** (8) : 3489 – 3500, 2014.
 - 21) Basile G, Kulkarni RN, Morgan NG: How, When, and Where Do Human beta-Cells Regenerate? *Curr Diab Rep*, **19** (8) : 48, 2019.
 - 22) Talchai C, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D: Pancreatic beta cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic beta cell failure. *Cell*, **150** (6) : 1223 – 1234, 2012.
 - 23) Cinti F, Bouchi R, Kim-Muller JY, et al.: Evidence of beta-Cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, **101** (3) : 1044 – 1054, 2016.
 - 24) Veres A, Faust AL, Bushnell HL, et al.: Charting cellular identity during human in vitro beta-cell differentiation. *Nature*, **569** (7756) : 368 – 373, 2019.
 - 25) Yamaguchi T, Sato H, Kato-Itoh M, et al.: Interspecies organogenesis generates autologous functional islets. *Nature*, **542** (7640) : 191 – 196, 2017.
 - 26) Koike H, Iwasawa K, Ouchi R, et al.: Modelling human hepato-biliary-pancreatic organogenesis from the foregut-midgut boundary. *Nature*, **574** (7776) : 112 – 116, 2019.
 - 27) Kulkarni RN, Bruning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR: Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell*, **96** (3) : 329 – 339, 1999.
 - 28) Okada T, Liew CW, Hu J, et al.: Insulin receptors in beta-cells are critical for islet compensatory growth response to insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(21): 8977 – 8982, 2007.
 - 29) Folli F, Okada T, Perego C, et al.: Altered insulin receptor signalling and beta-cell cycle dynamics in type 2 diabetes mellitus. *PLoS One*, **6** (11) : e28050, 2011.
 - 30) Gunton JE, Kulkarni RN, Yim S, et al.: Loss of ARNT/HIF 1 beta mediates altered gene expression and pancreatic-islet dysfunction in human type 2 diabetes. *Cell*, **122** (3) : 337 – 349, 2005.
 - 31) Togashi Y, Shirakawa J, Orime K, et al.: beta-Cell proliferation after a partial pancreatectomy is independent of IRS- 2 in mice. *Endocrinology*, **155**(5) : 1643 – 1652, 2014.
 - 32) Shirakawa J, Fernandez M, Takatani T, et al.: Insulin Signaling Regulates the FoxM 1 /PLK 1 /CENP-A Pathway to Promote Adaptive Pancreatic beta Cell Proliferation. *Cell Metab*, **25** (4) : 868 – 882 e5, 2017.
 - 33) Eguchi K, Nagai R: Islet inflammation in type 2 diabetes and physiology. *J Clin Invest*, **127** (1) : 14 – 23, 2017.
 - 34) Ma K, Xiao A, Park SH, et al.: 12-Lipoxygenase Inhibitor Improves Functions of Cytokine-Treated Human Islets and Type 2 Diabetic Islets. *J Clin Endocrinol Metab*, **102** (8) : 2789 – 2797, 2017.
 - 35) Gerst F, Wagner R, Kaiser G, et al.: Metabolic crosstalk between fatty pancreas and fatty liver: effects on local inflammation and insulin secretion. *Diabetologia*, **60** (11) : 2240 – 2251, 2017.
 - 36) Inoue H, Shirakawa J, Togashi Y, et al.: Signaling between pancreatic beta cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A 8 exacerbates beta-cell apoptosis and islet inflammation. *J Biol Chem*, **293** (16) : 5934 – 5946, 2018.
 - 37) Ji Y, Sun S, Shrestha N, et al.: Toll-like receptors TLR 2 and TLR 4 block the replication of pancreatic beta cells in diet-induced obesity. *Nat Immunol*, **20** (6) : 677 – 686, 2019.
 - 38) Saisho Y, Butler AE, Manesso E, Elashoff D, Rizza RA, Butler PC: beta-cell mass and turnover in humans: effects of obesity and aging. *Diabetes Care*, **36** (1) : 111 – 117, 2013.
 - 39) Kou K, Saisho Y, Satoh S, Yamada T, Itoh H: Change in beta-cell mass in Japanese nondiabetic obese individuals. *J Clin Endocrinol Metab*, **98** (9) : 3724 – 3730, 2013.

Abstract

THE INCREASING DEMAND FOR HUMAN ISLETS FOR DIABETES RESEARCH

Jun SHIRAKAWA

*Laboratory of Diabetes and Metabolic Disorders Institute
for Molecular and Cellular Regulation (IMCR) Gunma University*

β -Cell dysfunction in type 1 and type 2 diabetes mellitus is accompanied by a progressive loss of β -cells, and an understanding of the cellular mechanism(s) that regulate β -cell mass will enable approaches to enhancing hormone secretion. In fact, over the past 10-15 years, several studies have contributed to the identification of islet changes associated with type 1 and type 2 diabetes mellitus. It is becoming increasingly recognized that enhancement of human β -cell mass is one potential approach to prevent and/or cure type 1 and type 2 diabetes mellitus. Human islet research is crucial to understanding the mechanisms of the regulation of β -cell mass. Whereas several reports have described the factor(s) that enhance β -cell mass in animal models or cell lines, promoting effective human β -cell mass continues to be a challenge in the field. Thus, the demand for human islets for basic research is ever increasing, and novel findings on human islet biology are accumulating. In this review, we discuss recent scientific advances, as well as methodological and experimental challenges that impact human islet quality, experimental outcomes, and the availability of human islets, in Japan for the treatment of diabetes mellitus.