

201024157A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と
診療指針作成のための研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

谷 澤 幸 生

平成 23(2011)年 5 月

目 次

I. 総括研究報告

Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と 診療指針作成のための研究	-----	1
谷澤 幸生		

II. 分担研究報告

1. Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と 診療指針作成のための研究	-----	7
岡 芳知		
2. Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と 診療指針作成のための研究	-----	11
山田 祐一郎		
3. Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と 診療指針作成のための研究	-----	13
和田 安彦		

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	16
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	18
-----------------	-------	----

Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と診療指針作成のための研究
研究代表者 谷澤 幸生 山口大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

Wolfram症候群(WFS)は糖尿病(DM)、視神経萎縮(OA)、尿崩症(DI)、難聴(D)、尿路異常に加えて多彩な神経・精神症状を合併する進行性の遺伝性難病で、治療法は確立されていない。原因遺伝子 *WFS1* の同定により遺伝子診断が可能となったが、発症メカニズムは依然不明である。また、*WFS1* 遺伝子変異によらないWFSも存在し、多様性をもつ。英国では770,000人に1人と推計されているが日本での実態は全く不明であった。

当研究班では、昨年度から日本での実態を明らかにするための調査を行っている。WFS診断のminimal criteriaと考えられているDM + OAの合併例について過去10年間での経験の有無、その患者の他の随伴症候について質問した。また、OAは診断されていないが、WFSを特徴付ける他の症候とDMの合併例についても「疑い例」として調査した。調査票は昨年度調査を行った糖尿病専門医・内分泌代謝専門医（内科、小児科）5,632名に加えて、平成18年度小児慢性特定疾患治療研究事業に新規、または継続登録された糖尿病患者のうち、糖尿病合併症以外の合併症を持つ患者の主治医320名を追加して調査を行った。

合計のべ104人のDMとOAの合併例が報告された。このうち、56症例が他の主要徴候を合併していた。その内訳は、DI 67.9% (38/56)、D 85.7% (48/56)、尿路異常50.0% (28/56)、神経・精神症状64.3% (36/56)であった。4徴候すべて揃っている症例は58.9% (33/56)であった。疑い例を含む154例について遺伝子診断を含む詳細な2次調査を継続して実施中である。

WFS1 遺伝子検査は、今回の調査までに依頼を受けたものを合わせて、22例(21家系)について行なっている。これらの患者のDMの平均発症年齢は9.9歳、OAは13.5歳であった。変異が同定されたのは13例(12家系、57.1%)であった。変異の有無によりDM、OAの発症年齢や合併徴候数に差は見られなかった。

WFS患者の視神経萎縮についてのpreliminaryな検討では視神経線維の部分脱落によるモザイク状の障害で始まり、その後悪化進行して中心部の視機能が低下する特異な像を呈することを明らかになった。さらに症例を重ねて検討する。

WFSにおける糖尿病の発症機構に関しては、小胞体に存在するWFS1蛋白の欠損のためβ細胞が小胞体ストレスに対して脆弱となることが明らかになっている。加えて、今回、WFS1蛋白がインスリン分泌顆粒に存在し、顆粒内の低pHの維持に重要であることを見いだした。*Wfs1*ノックアウトマウスではインスリンのプロセッシング障害とブドウ糖応答性インスリン分泌の障害が認められ、β細胞の量的異常のみならず質的異常も存在する。この質的異常（機能異常）にはインスリン分泌顆粒上のWFS1蛋白の欠損が関係する可能性が示唆される。

治療法開発について、我々は先に *Wfs1*^{-/-}マウスで、pioglitazone投与が糖尿病発症を顕著に抑制することを報告しているが、WFS1遺伝子変異del1508YVYLLが同定されている秋田家系の患者において、インスリン分泌がわずかに残存し、GLP-1アナログにより若干のインスリン分泌の改善と投与インスリン必要量の減少が観察された。動物モデルにおいてもDPP4阻害薬Vildagliptinが糖尿病の進行を抑制する可能性が示唆された。

研究分担者

岡 芳知

東北大学大学院医学系研究科 教授

山田祐一郎

秋田大学大学院医学系研究科 教授

和田 安彦

高知女子大学健康栄養学部 教授

雨宮 伸

埼玉医科大学医学部 教授

杉原 茂孝

東京女子医科大学東医療センター 教授

A. 研究目的

本研究は、Wolfram 症候群(WFS)患者の福祉向

上のために日本での発症率・有病率、症候や治療の実態、予後を明らかにし、早期診断が可能な診断法を確立し、診療指針を作成する。同時に治療法開発の分子基盤を得るため、発症に係わる分子機構を明らかにする。Wolfram症候群のような稀少疾患に対して新規治療薬を臨床応用してゆくためには、臨床試験のための患者組織が重要である。患者、担当医の協力を得て患者登録をおこない、新規治療法の開発基盤とすることを目指す。

Wolfram症候群は、一般に若年発症のインスリン欠乏型糖尿病と視神経萎縮の合併をもって診断される。他に尿崩症や難聴、尿路異常、脳幹・小脳失調などの神経症状や双極性障害、統合失調症などの精神症状をしばしば合併する。代表的な合併症である尿崩症(Diabetes Insipidus)、糖尿病(Diabetes Mellitus)、視神経萎縮(Optic Atrophy)、難聴(Deafness)の頭文字を取ってDIDMOAD症候群とも呼ばれる。常染色体性に劣性遺伝する。我々はWolfram症候群の原因遺伝子WFS1を世界に先駆けて同定し、Wolfram症候群の遺伝子診断を初めて可能にした(Inoue 他 Nature Genet 1998)。英国での調査によれば、若年(15歳未満)発症のインスリン依存性糖尿病と視神経萎縮を診断基準とすれば、90%以上の患者でWFS1遺伝子に変異が同定されると報告されている。頻度は770,000に1人と極めて希少である。一方、他の報告によれば、WFS1遺伝子に変異が同定できない患者も多数見られ、事実、Jordanの患者で第2のWolfram症候群遺伝子WFS2としてZCD2遺伝子が同定されている。

日本でもこれまでにWolfram症候群の患者が散発的に報告されているが、系統的な調査は行われておらず、頻度や、遺伝的多様性についても十分明らかにされていない。また、まれな疾患であるがために診断が遅れることも多く、また、多彩な症候のために患者の生活の質は著しく障害される。

そのような背景の中で、日本でのWolfram症候群の実態を明らかにし、的確な診断法を確立し、さらに患者の福祉向上に役立てるために診療指針を作成し、広くこの疾患について啓発することは意義深い。同時に、遺伝子は同定されたものの、その遺伝子によりコードされる蛋白の機能も十分解明されているとは言えず、糖尿病をはじめとする症候の発症メカニズムも明らかでない。このような点を明らかにしてゆくことは治療法開発のために必須である。

B. 研究方法

日本での実態を明らかにするためのアンケート調査を行っている。昨年、Wolfram症候群と診断さ

れた、またはそれが疑われる患者の経験を全国の糖尿病・内分泌専門医(内科、小児科)5,632名を対象にアンケート調査を実施した。今年度はさらに、小児慢性特定疾患治療研究事業に登録された小児糖尿病患者のうち、糖尿病合併症以外の合併症を有する患者の主治医に対して追加調査を行った。これらの調査により報告された糖尿病患者に対して、合併徴候とその発症年齢、重症度等についての詳細な病歴、治療歴などに関する大2次調査を行った。また、遺伝子診断が行われていない患者で、同意が得られたものについてはWFS1遺伝子の変異解析を行った。同時に、ミトコンドリア遺伝子変異で類似の症候を呈することがあることから、代表的な3243変異(MIDDまたはMELAS)、および11778変異(Leber病)についても解析を行った。

また、研究分担者および協力者が直接診療にあたっている患者についてより詳細な病歴、合併症、治療について調査を行った。特に、視神経萎縮について他の原因による視神経萎縮との病態の差異を検討する目的で、詳細な眼科的検討を行った。熊本大学江良教授との共同研究で、同意が得られた患者の皮膚線維芽細胞からiPS細胞の樹立を目指す。患者および家族から直接聞き取り調査によっては、療養上の問題点等について調査を行った。

アンケート調査は全て匿名化し、個人を特定できる情報は収集しなかった。患者および患者家族への調査は、今回の研究の趣旨について十分な説明を行い、同意の下に調査に協力いただいた。遺伝子診断は遺伝医学関連学会による遺伝学的検査に関するガイドラインに従い、倫理委員会の許可のもとに実施した。

WFS1蛋白の細胞内局在は、免疫電顕法により行い、インスリン分泌顆粒のpHは、DAMP (Invitrogen, OR, USA)およびLysoTracker (Molecular Probes)を用いて、既報の方法により測定した。動物実験は山口大学医学部における動物実験に関する倫理委員会の審査、承認を受けて行った。

C. 研究結果

(1) Wolfram症候群に関する実態調査

全国の糖尿病専門医および内分泌代謝専門医に加えて、小児慢性特定疾患治療研究事業(小児糖尿病)に登録された患者のうち、糖尿病合併症以外の合併症を有することが報告されている患者の主治医に対して追加アンケート調査を行った。その結果、合計のべ104人の糖尿病と視神経萎縮の合併例が報告された。このうち、56症例が他の主要徴候を合併していた。その内訳は、尿崩症 67.9% (38/56)、聴力障害 85.7% (48/56)、尿路異常 50.0% (28/56)、神経・精神症状 64.3% (36/56)であった。4徴候すべて揃っている症例は58.9% (3

3/56)であった。糖尿病および尿崩症を7歳で発症し、18歳時に視神経萎縮と難聴を診断された1例が報告された。通常、尿崩症の発症は糖尿病や視神経萎縮の発症に遅れることが多いが、本症例では視神経萎縮が診断された18歳時に始めてWolfram症候群と診断されている。診断時には全色盲と矯正視力0.1と視神経萎縮は進行していたため、その発症はもっと以前であったと考えられるが、糖尿病と尿崩症が視神経萎縮に先だって顕在化する症例もあることを示しており、Wolfram症候群の早期診断を考える上では重要な症例である。疑い例を含む154例について遺伝子診断を含む詳細な2次調査を継続して実施中である。

(2) Wolfram症候群患者の遺伝子解析

*WFS1*遺伝子検査は、今回の調査までに依頼を受けたものを合わせて、22例(21家系)について行なっている。これらの患者の糖尿病の平均発症年齢は9.9歳、OAは13.5歳であった。変異が同定されたのは13例(12家系、57.1%)であった。変異の有無によりDM、OAの発症年齢や合併徴候数に差は見られなかった。

変異のHot Spotはみられず、患者により変異の種類は様々であるため、phenotype-genotype relationshipを明らかにすることは困難である。その中で、193番アミノ酸のLysを欠失する変異(del193K)が2家系、3名に同定された。1家系1名はこの変異のホモ接合体であり、他の家系の姉妹例は1塩基欠失によるフレームシフト変異(del1650fs/ter710)との複合ヘテロ接合体であった。この変異を有する患者では、この変異以外の*WFS1*遺伝子変異を持つ患者と比較すると糖尿病、視神経萎縮ともに発症年齢が遅かった。特にこの変異をホモ接合体で持つ患者では27歳時に糖尿病を診断されてから少なくとも8年は食事療法またはSU薬で治療されており、長期にインスリン分泌が保たれていた。この患者の妹も20歳で視神経萎縮、40歳で糖尿病の診断を受けており、そのほかの臨床情報は得られておらず、また遺伝子診断も行えていないが、臨床的にはWolfram症候群と診断可能で、主要2徴候の発症年齢が遅い点は興味深い。

(3) 視神経萎縮の特徴

Wolfram症候群の2姉妹例について視神経萎縮についての眼科的検討が行い得た。preliminaryな検討では視神経線維の部分脱落によるモザイク状の障害で始まり、その後悪化進行して中心部の視機能が低下する特異な像を呈する。視神経の機能的異常に比べて形態学的異常が強い傾向があった。さらに症例を重ねて検討する。

(4) WFSにおける糖尿病の発症機構

膵ランゲルハンス氏島でのβ細胞の選択的消失に関しては、小胞体に存在するWFS1蛋白の欠損の

ためβ細胞が小胞体ストレスに対して脆弱となることが明らかになっている。加えて、今回、WFS1蛋白がインスリン分泌顆粒に存在し、顆粒内のpHを酸性に維持するために重要であることを見いだした。免役組織化学的検討ならびに免疫電子顕微鏡解析により、β細胞においては、小胞体だけではなく、むしろインスリン分泌顆粒により豊富にWFS1蛋白が存在していることを示した。インスリン分泌顆粒は顆粒内が酸性に維持されており、このことはプロインスリンのプロセッシングや、さらには、分泌顆粒の開口放出にあたってのプライミングに必要であることが知られている。実際、DAMPあるいはLysoTrackerを用いた検討で、*Wfs1*ノックアウトマウスでは顆粒内の酸性化障害がみられ、血中、膵プロインスリン/インスリン比が野生型に比べて高くなっていることからインスリンのプロセッシング障害も認められた。顆粒の細胞内局在の検討では、インスリン分泌顆粒の数には変化がみられなかったが、細胞膜に接して存在する分泌顆粒の比率が野生型と比較して減少していた。

(5) 治療法開発

我々は先に*Wfs1*^{-/-}マウスで、pioglitazone投与が糖尿病発症を顕著に抑制することを報告している。このβ細胞保護効果には全身性のインスリン抵抗性の軽減が関係していると考えられるが、同時に、pioglitazoneが直接インスリン分泌顆粒に作用する可能性もある。そこで、*A/A*マウス単離ラ氏島のマイクロアレイ解析を行ったところ、pioglitazone投与によりアドレノメデュリンの発現が増加していた。MIN6細胞に10nMのpioglitazoneを添加すると、アドレノメデュリンのmRNAが2.3倍に増加した。MIN6細胞の抗PPAR γ 抗体によるChIPアッセイでは、pioglitazone存在下でのみPPAR γ がアドレノメデュリンのプロモーターに結合した。ThapsigardinによるMIN6細胞でのcleaved caspase-3の発現は、100nMのアドレノメデュリンペプチドの添加により約30%減少した。

Wfs1^{-/-}マウスに対して、DPP4阻害薬Vildagliptinによる治療を試みた。Vildagliptinを1日2回、4週間経口投与したところ、腹腔内ブドウ糖負荷によるインスリン分泌が改善し、膵インスリン含有量も増加した。糖尿病の進行を抑制する可能性が示唆された。

*WFS1*遺伝子変異del1508YVYLLが同定されている秋田家系の患者のひとりにおいては、インスリン分泌がわずかに残存していた。そこで、倫理委員会の承認を得て、この患者にGLP-1アナログにより治療を試みたところ、若干のインスリン分泌の改善と投与インスリン必要量の減少が観察された。

D. 考察

本邦においてもWolfram症候群は希少である。報告例の重複、網羅性について、1次調査からの推計には課題もあるが、日本での患者数は150から200例程度、人口比では英国とほぼ同程度と推定している。各症候の頻度については、欧米における報告に比べ難聴の発現頻度が高い傾向にあったものの、他の徴候については同等であった。

WFS1遺伝子の同定によって、Wolfram症候群の遺伝子診断が可能となった。英国では、糖尿病の発症を15歳以下、と発症年齢の基準を診断基準に加えたとき、Wolfram症候群と臨床的に診断された患者の95%にWFS1遺伝子変異が同定されている。今回の調査では、糖尿病発症年齢には基準を設けていないが、WFS1遺伝子に変異が同定されたのは22例(21家系)中13例(12家系、57.1%)であった。WFS1遺伝子異常症であるWolfram症候群と、他の原因が推察されるもの間で、糖尿病や視神経萎縮の発症年齢について差がないことから、現時点では発症年齢についてstringentな基準を設けるのは適切でないように思われる。

一方、今回の調査で、糖尿病、尿崩症の発症(診断)から11年後に始めて視神経萎縮が認められ、Wolfram症候群の診断に至った1例が登録されている。診断時には視力障害がかなり進行しており、実際の視神経萎縮の発症はもっと前であったと推測されるが、従来の「糖尿病と視神経萎縮の合併」という診断基準では診断の遅れる症例があることは注意を要する。さらなる症例の蓄積や各徴候の発症時期、経過についての詳細な検討が必要である。根本的治療や予防の方法が確立されていない現状では、早期に診断することにより、将来避け得ない視力低下や神経症状をはじめとする他の徴候の出現に対して早期からの援助やリハビリの開始が重要となる。

糖尿病の発症メカニズムについては研究が進みつつあるが、視神経萎縮についてはこれからである。Wolfram症候群患者の視神経萎縮の眼科的特徴は、他の原因によるものと異なる可能性があり、今後さらなる解明が期待される。

WFS1蛋白の機能については、小胞体での小胞体ストレスに関連する機能、特に、イオンチャネルまたはその機能を調節する作用によりカルシウムホメオスタシスの維持にかかわることが推測されてきたが、最近、より直接にATF6を負に制御する可能性が示唆されている。さらに、今回我々の検討で、β細胞においてはインスリン分泌顆粒に多く存在し、顆粒内の低pH維持に必要であることが明らかとなった。

治療法の開発に関連して、肥満を合併する動物モデルで、Wfs1欠損による糖尿病がpioglitazoneにより著明に抑制されることを報告してきたが、

その効果は、一部はβ細胞への直接作用によるもので、アドレノメデュリンを介して発揮される可能性が示唆された。Wolfram症候群に限らず、pioglitazoneのβ細胞保護作用のメカニズムの一端を明らかにしつつある。加えて、インクレチン薬がWolfram症候群患者での糖尿病の進行を遅延させる可能性が示唆された。

E. 結論

日本でのWolfram症候群の実態が明らかになりつつある。頻度は英国とほぼ同じと推測される一方、WFS1遺伝子異常による比率は英国に比べると少なく、遺伝的により多様であることが示唆された。WFS1遺伝子異常による患者の中には、糖尿病発症後、視神経萎縮による症状が顕在化する前に尿崩症が顕在化した例もあり、比較的まれな組み合わせである、糖尿病と尿崩症の合併をみた際にもWolfram症候群を疑って検査を進める必要があることが示唆され、早期診断を行う上で重要である。今後はさらに、診断後の診療指針の提案に向けて、患者の実態の詳細な検討を進める必要がある。

治療法開発に向けての基礎研究も順調に進みつつある。具体的な候補薬剤や、薬剤のターゲット分子も視野に入ってきているが、それらが果たして有効かどうかは患者を対象とした臨床研究(試験)が欠かせない。この点においては、希少疾患であるだけに国際協力は必須である。国際的にも日、米、欧でWolfram症候群の成因解明と治療法開発に向けてコンソーシアムが形成されている(http://asso.orpha.net/ASW/_PP_5.html)。本研究班は上記活動の日本での核として期待されている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hatanaka M, Tanabe K, Yanai A, Ohta Y, Kondo M, Akiyama M, Shinoda K, Oka Y, **Tanizawa Y**. Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) product localizes to secretory granules and determines granule acidification in pancreatic β-cells. Hum Mol Genet. 2011 20(7):1274-84.
- Tanabe K, Liu Y, Hasan SD, Martinez SC, Cras-Méneur C, et al. (2011) Glucose and Fatty Acids Synergize to Promote β-Cell Apoptosis through Activation of Glycogen Synthase Kinase 3β Independent of JNK Activation.

PLoS ONE 2011 6(4):e18146.

- 太田康晴、谷澤幸生 膵β細胞死 臨床検査 2010 54(9):1040-1047.
- 松永仁恵、谷澤幸生 Wolfram 症候群 月刊糖尿病 2011 3(4):50-57.
- 谷澤幸生 糖尿病の遺伝子診断・治療と生命倫理 糖尿病ナビゲータ 第2版(編集 門脇 孝) 2010 メディカルレビュー社 324-325.

2. 学会発表

- Tanizawa Y. Beta cell failure in type 2 diabetes. Asian Diabetes Forum in Tokushima 2010, Aug.11,2010,Tokushima, Japan.
- Hatanaka M., Tanabe K., Ohta Y., Yanai A., Akiyama M., Kondo M., Shinoda K., Oka Y. Tanizawa Y. Wolfram syndrome 1 gene(wfs1)product localizes to insulin granule in mouse pancreatic beta cells. The 2nd Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, May 28-29, 2010, Okayama, Japan.
- Matsui K., Emoto M., Miyamoto S., Tanizawa Y. A role for SNARE binding protein p34 in GLUT4-vesicle recycling. The 2nd Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, May 28-29, 2010, Okayama, Japan.
- Hatanaka M., Tanabe K., Ohta Y., Yanai A., Akiyama M., Kondo M., Shinoda K., Oka Y. Tanizawa Y. Wolfram Syndrome 1 Gene(wfs1)Product Localizes to Secretory Granule and Contributes to Maintenance of Granular Acidification in Pancreatic Beta Cells. 70th Annual Meeting and Scientific Sessions of the American Diabetes Association, June 25 - 29, 2010, Orlando, FL,USA.
- Nakabayashi H, Tanabe K., Oka Y., Hatanaka M., Kondo M., Emoto M., Tanizawa Y. Glycogen synthase Kinase 3 Promotes ATF4 Protein Degradation in Pancreatic Beta Cell During ER Stress. 8th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress, Oct.17 - 20, 2010, Busan, Korea.
- Kondo M., Ohta Y., Hatanaka M., Tanabe K., Tanizawa Y. Chronic Administration of Exendin-4 Improves Glucose Tolerance and Insulin Secretion. 8th International Diabetes Federation Western Pacific Region Congress (Abstract 173P), Oct.17 - 20, 2010, Busan, Korea.
- 松井久未子、谷澤幸生 SNARE 結合蛋白 P34 は脂肪細胞における糖輸送を調節する 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 角田宇衣子、檜尾好徳、石垣 泰、安田和基、谷澤幸生、今井 潤、片桐秀樹、岡 芳知 Apaf1-interacting protein(APIP)遺伝子多型と2型糖尿病との相関研究 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 田部勝也、MA Permutt、谷澤幸生 The roles of glycogen synthase kinase-3β in the regulation of β-cell mass in insulin resistant diabetes models 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 江本政広、福田尚文、谷澤幸生 GLUT4-vesicle fusion: Role of SNARE regulator DOC2b and calcium 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 近藤 学、太田康晴、幡中雅行、田部勝也、谷澤幸生 GLP-1 アナログ Exendin-4 は Wfs1 欠損マウスの耐糖能を改善する 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 太田康晴、近藤 学、幡中雅行、田部勝也、中林容子、谷澤幸生 ピオグリタゾンのもつ膵β細胞の保護作用における膵ラ氏島でのアドレノメデュリンの発現意義 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 田部勝也、太田康晴、奥屋 茂、和田安彦、山田祐一郎、岡 芳知、谷澤幸生 Wolfram 症候群の実態調査 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 奥屋 茂、田部勝也、江本政広、太田康晴、谷澤幸生 新規 Glut 4 結合蛋白 p 61 は脂肪細胞の Glut4 エンドサイトーシスに影響を及ぼす 第53回日本糖尿病学会年次学術集会(平成22年5月27-29日 岡山市)
- 谷澤幸生 糖尿病における細胞障害メカニズム: Wolfram 症候群におけるβ細胞障害-ER stress and beyond- 第25回日本糖尿病合併症学会(平成22年10月22-23日 大津市)
- 山本将義、太田康晴、薄陽祐、田部勝也、近藤 学、幡中雅行、中林容子、谷澤幸生 膵ラ氏島における Arnt の発現には概日リズムが認められる 日本糖尿病学会中国四国地方会第48回総会(平成22年10月29-30日 松山市)
- 中林容子、田部勝也、太田康晴、幡中雅行、近藤 学、江本政広、谷澤幸生 セリン・スレオニンキナーゼ GSK-3 は ATF 4 を抑制的に調

節する 日本糖尿病学会中国四国地方会第48回総会（平成22年10月29-30日 松山市）

- 田部勝也、幡中雅行、太田康晴、谷澤幸生 膵β細胞量調節におけるセリン・スレオニンキナーゼ GSK-3β の役割 日本糖尿病学会中国四国地方会第48回総会（平成22年10月29-30日 松山市）
- 太田康晴、近藤 学、幡中雅行、田部勝也、山本将義、中林容子、谷澤幸生 ピオグリタゾンによる膵ラ氏島でのアドレノメデュリンの発現誘導と膵β細胞保護作用 第22回分子糖尿病学シンポジウム（平成22年12月

4日 東京）

- 松井久未子、福田尚文、江本政広、谷澤幸生 SNARE 結合蛋白 p34 は脂肪細胞における糖輸送を調節する 第84回日本内分泌学会学術総会（平成23年4月21-23日 神戸市）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他（研究に関する新聞記事等）

Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と診療指針作成のための研究
分担研究者 岡 芳知 東北大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

Wolfram症候群は、膵β細胞の脱落による進行性の糖尿病を呈することが知られている。我々は、原因遺伝子Wfs1の欠損マウスを用い、その機序として小胞体ストレスによる膵β細胞死の関与を示してきた。今回は、その発症や進展に対する治療開発につなげるべく、下記の研究を行った。

GLP-1に代表されるインクレチンの関連薬は、膵β細胞からの糖負荷時のインスリン分泌を促進する薬として開発され、既に臨床応用されている。さらに、GLP-1は膵β細胞保護効果を有することが指摘されているが、未だその詳細は明らかではない。そこで、Wfs1遺伝子欠損マウスに、インクレチン関連薬であるDPP-4阻害薬・vildagliptinを1日2回、4週間連日投与し、膵β細胞に対する保護効果を検証した。連日投与後の腹腔内ブドウ糖負荷試験では、vildagliptin投与群でグルコース刺激に対するインスリン分泌増加を示した。また、vildagliptin投与群では、非投与群と比較し、膵インスリン含有量が32%増加し、Wfs1遺伝子欠損マウスにおけるインスリン含有量の進行性の低下が軽減された。さらに、小胞体ストレス過剰負荷の特徴である膵β細胞の小胞体膨化が、vildagliptin投与によって抑制されていることが、電子顕微鏡によって観察された。以上によって、Wfs1遺伝子欠損マウスにおけるvildagliptinの膵β細胞保護効果が示され、その機序として、小胞体ストレス反応の軽減が示唆された。

小胞体ストレスは、Wolfram症候群のような特殊な遺伝病のみならず、一般的な2型糖尿病の膵β細胞量の減少の一因として認識されている。また、Wfs1遺伝子異常は、Wolfram症候群という稀な遺伝性疾患の原因であるのみならず、一般的な2型糖尿病の発症リスクとの関連が指摘されている。本研究は、Wfs1遺伝子欠損マウスというヒトの2型糖尿病における病態を反映しうるモデルマウスを用いて、DPP-4阻害薬（vildagliptin）の膵β細胞保護効果を示している。

本研究結果は、インクレチン関連薬をWolfram症候群の患者や2型糖尿病の膵β細胞保護目的に早期から用いるという、新たな治療戦略を進展させ得る根拠を示したものである。

A. 研究目的

Wolfram症候群は、1938年に家族性の若年発症の糖尿病と視神経萎縮の合併症として初めて報告された疾患である。その後、尿崩症や感音性難聴を合併しやすいことが報告され、これらを4徴としてDIDMOAD (diabetes insipidus, diabetes mellitus, optic atrophy, deafness) 症候群とも呼ばれている。Wolfram症候群は、膵β細胞や特定の神経系細胞の変性死に基づく疾患であると考えられてきたが、1998年、ポジショナルクローニングによりWolfram症候群の原因遺伝子が第4染色体短腕（4p16.1）上に同定されWFS1と命名された。WFS1遺伝子がコードするタンパク質（WFS1）は多くの組織で発現しているが、特に心・肺・脳・膵などで高い発現が認めら

れる。細胞内では小胞体膜に存在し、小胞体ストレス応答において重要な機能を担うことが明らかにされている。Wolfram症候群のモデルマウスとして作製したWfs1遺伝子欠損マウスは、インスリン分泌不全に基づく耐糖能異常を呈し、およそ16週齢以降で高血糖状態となる。膵β細胞では、小胞体ストレスによるアポトーシスが亢進し、細胞量は8週齢以降ですでに有意に低下している

2型糖尿病のインスリン分泌不全に対する新たな治療薬として、近年、インクレチン関連薬が注目を浴びている。インクレチンの一種であるGLP-1 (glucagon-like polypeptide-1) は、食物刺激により小腸から分泌される消化管ホルモンで、インスリン分泌を促進する。しかし、血中でDPP-4 (dipeptidyl peptidase-4) によって速やかに分

解され、不活化する。そこで、GLP-1シグナルを増強するため、DPP-4阻害薬が開発され、糖尿病の実臨床に応用されている。GLP-1は、インスリン分泌促進に加え、膵β細胞保護効果を有する可能性があり、注目されているが、その実態・メカニズム詳細は、未だ不明である。

我々は、DPP-4阻害薬であるvildagliptinが、WFS1遺伝子欠損マウスの膵β細胞に対して保護効果を有するかについて検討を行った。

B. 研究方法

野生型マウス (WTマウス) とWfs1遺伝子欠損マウス (Wfs1^{-/-}マウス) に、5週齢から9週齢までの4週間、vildagliptin (50mg/kg) を1日2回、ゾンデを用いて経口投与した。

4週後、腹腔内ブドウ糖負荷試験、血中のインスリン値、膵臓のインスリン含有量、電子顕微鏡での膵β細胞の観察を行い、膵β細胞の保護効果を検討した。

C. 研究結果

WTマウス、Wfs1^{-/-}マウスともに、随時血糖、体重、摂餌量についてvildagliptin投与群・非投与群の間に有意差を認めなかった。Wfs1^{-/-}マウスは、9週齢の時点では、血糖の上昇は認めないが腹腔内ブドウ糖負荷試験を行うと耐糖能の低下を認める。

野生型マウスは、腹腔内ブドウ糖負荷試験において、vildagliptin投与群・非投与群間で耐糖能に有意差は認めなかった。しかし興味深いことに、vildagliptin投与群では、耐糖能の悪化が軽減された。インスリン初期分泌も有意に増加していた。

次に、膵インスリン含有量を測定した。Wfs1^{-/-}マウス - vildagliptin非投与群は、野生型マウスと比べ膵インスリン含有量が53%減少していた。Wfs1遺伝子欠損マウスの膵インスリン含有量が低値を示すという結果は、我々がこれまでに報告した結果と合致する。一方、Wfs1^{-/-}マウス - vildagliptin投与群は、Wfs1^{-/-}マウス - vildagliptin非投与群より膵インスリン含有量が32%増加していた。Wfs1^{-/-}マウスにおいて、vildagliptinの長期投与により、膵臓でのインスリン含有量の進行性の低下が軽減されたことが明らかとなった。

vildagliptinの4週間投与により、実際に小胞体ストレスが軽減されているかを検討するために、電子顕微鏡を用いて形態学的な評価を行った。Wfs1^{-/-}マウスは、WTマウスに比べて、小胞体ストレス過剰負荷の特徴である小胞体の膨化を持つ膵β細胞が、数多く観察された。一方、Wfs1^{-/-}マウス - vildagliptin投与群は、Wfs1^{-/-}マウス - vildagliptin非投与群より小胞体の膨化を持つ

膵β細胞の割合が著しく減少していた。小胞体ストレスが亢進するWfs1^{-/-}マウスにおいて、vildagliptinが小胞体ストレスを軽減し、膵β細胞を保護していることが形態学的にも確認された。

D. E. 考察および結論

本研究により、Wolfram症候群のモデルマウスにおいて、vildagliptinの長期投与が小胞体ストレスによる膵β細胞障害を軽減させることが明らかとなった。

膵β細胞は、インスリンを大量に分泌するため、元来、小胞体ストレスに対する負荷が大きい細胞である。小胞体ストレスは、Wolfram症候群やWolcott-Rallison症候群などの小胞体ストレス応答関連遺伝子の異常が原因で発症する特殊な糖尿病のみならず、一般的な2型糖尿病における膵β細胞量の減少の一因として広く認識されている。また、WFS1遺伝子がWolfram症候群という稀な疾患の原因遺伝子であることのみならず、WFS1遺伝子のcommon variantが2型糖尿病の発症リスクを規定するという報告は、重要である。最新の前向き大規模臨床試験によると、WFS1遺伝子におけるrs10010131のG-alleleが2型糖尿病の発症リスクを高めるとされる。同様の結果が、rs1801213のG-alleleやrs734312のA-alleleに於いても認められている。本研究は、Wfs1遺伝子欠損マウスというヒトの2型糖尿病における病態を反映しうるモデルマウスを用いてDPP-4阻害薬 (vildagliptin) の膵β細胞保護作用を検討したと考えられる。

DPP-4阻害薬 (vildagliptin) は、GLP-1やGIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) などのインクレチンの不活化を抑制することでインスリン分泌を促進し血糖降下作用を発揮する。これまでの報告を参考にすると、本研究での膵β細胞保護効果は、主にGLP-1シグナルを介した小胞体ストレス軽減によると考えられる。しかしながら、他のインクレチン (主にGIPシグナル) の影響について考慮する必要がある。そのため、本研究で得られた結果が、GLP-1シグナルに特異的に依存した作用であるか否かを検討するために、vildagliptinとexendin(9-39) (the specific GLP-1 receptor antagonist) をWfs1^{-/-}マウスに同時投与する実験を行っている。また、GLP-1が小胞体ストレス応答のどの経路に作用し、小胞体ストレスを軽減させているのか、培養細胞を用いて検討を行っている。

本研究結果は、インクレチン関連薬をWolfram症候群の患者や2型糖尿病の膵β細胞保護目的に、早期から用いるという、新たな治療戦略を進展させ得る根拠を示したと考えられ、意義深い。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Tominaga R, Yamaguchi S, Satake C, Usui M, Tanji Y, Kondo K, Katagiri H, Oka Y, Ishihara H. The JNK pathway modulates expression and phosphorylation of the translational suppressor 4E-BP1 in MIN6 pancreatic β cells under oxidative stress conditions. *Cell Biochemistry & Function* 28(5):387-93, 2010
- Hosaka M, Mimura A, Asayama K, Ohkubo T, Hayashi K, Kikuya M, Sato M, Hashimoto T, Kanno A, Hara A, Obara T, Metoki H, Inoue R, Hoshi H, Satoh H, Oka Y, Imai Y. Relationship of dysregulation of glucose metabolism with white-coat hypertension: the Ohasama study. *Hypertension Research* 33:937-43, 2010
- Suzuki T, Imai J, Yamada T, Ishigaki Y, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, Oka Y, Katagiri H. Interleukin-6 enhances glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β -cells: potential involvement of the PLC-IP3 dependent pathway. *Diabetes* 60(2):537-47, 2010
- Nakatsu Y, Sakoda H, Kushiyama A, Ono H, Fujishiro M, Horike N, Yoneda M, Ohno H, Tsuchiya Y, Kamata H, Tahara H, Isobe T, Nishimura F, Katagiri H, Oka Y, Fukushima T, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T. Pin1 associates with and induces translocation of CRTCL2 to the cytosol, thereby suppressing cAMP-responsive element transcriptional activity. *J Biol Chem* 285(43):33018-27, 2010

2. 学会発表

- 岡 芳知 動脈硬化発症・進展における WFS1 の役割の検討 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 齋藤 徳郎、片桐 秀樹、長谷川 豊、荻原 健英、下澤 達雄、石垣 泰、山田 哲也、今井 淳太、宇野 健司、高 俊弘、金子 慶三、檜尾 好徳、浅野 知一郎、藤田 敏郎、岡 芳知 血管内皮細胞 NF- κ B の血管病変形性に果たす役割 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 宇野 健司、片桐 秀樹、山田 哲也、石垣 泰、今井 淳太、長谷川 豊、高 俊弘、金子 慶三、澤田 正二郎、松末 公彦、岡 芳知 肥満に伴う高血圧発症における肝臓の意義 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 富永 竜、石原 寿光、山口 賢、佐竹 千尋、薄井 正寛、丹治 泰裕、鈴木千登世、石垣 泰、山田

哲也、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 膵 β 細胞における小胞体ストレス応答と酸化ストレス応答のクロストーク 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山

- 山口 賢、石原 寿光、宗像佑一郎、佐竹 千尋、薄井 正寛、富永 竜、丹治 泰裕、鈴木 千登世、石垣 泰、山田 哲也、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 新規小胞体ストレス蛋白・CRELD2 の蛋白特性についての検討 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 泉田 欣彦、矢作 直也、武内 謙憲、西 真貴子、山田 哲也、久保田みどり、熊谷 真義、太田 啓介、高梨 幹生、高瀬 暁、五十嵐正樹、関谷 元博、飯塚 陽子、影山 晴秋、塩田 清二、位高 啓史、片岡 一則、新島 旭、片桐 秀樹、岡 芳知、大須 賀淳一、山田 信博、島野 仁、大橋 健、門脇 孝 飢餓での自律神経を介した肝・脂肪組織代謝制御の解明—Hepato-vagal pathway modulates carbohydrate-lipid balancing— 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 田部 勝也、太田 康晴、奥屋 茂、和田 安彦、山田祐一郎、岡 芳知、谷澤 幸生 Wolfram 症候群の実態調査 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 角田宇衣子、檜尾 好徳、石垣 泰、安田 和基、谷澤 幸生、今井 潤、片桐 秀樹、岡 芳知 Apaf1-interacting protein (APIP) 遺伝子多型と 2 型糖尿病との相関研究 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- 鍋田 藍、石垣 泰、沖本 久志、長谷川英之、小岩 喜郎、加藤 真、長谷川 豊、澤田正二郎、今井 淳太、山田 哲也、檜尾 好徳、片桐 秀樹、金井 浩、佐々木 毅、岡 芳知 糖負荷試験における血糖値上昇と頸動脈血管弾性特性の検討 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 5 月 27 日-29 日 岡山
- Kondo K, Gao J, Ishigaki Y, Oka Y, Katagiri H. The Role of CHOP Expressed in Vascular and Hematopoietic Cells in Vascular Remodeling. *American Diabetes Association 70th Scientific Sessions June 25th-29th Orlando Florida U.S.A.*
- Imai J, Suzuki T, Oka Y, Katagiri H. Interleukin-6 Enhances Glucose-Stimulated Insulin Secretion from Pancreatic β -Cells. *American Diabetes Association 70th Scientific Sessions June 25th-29th Orlando Florida U.S.A.*
- Ishigaki Y, Gao J, Katagiri H, Oka Y. ER stress responses, both in macrophages and vascular cells, play important roles in the development of arteriosclerosis. 第 42 回日本動脈硬化学会総会 7 月 15-16 日 岐阜
- Tokita A, Ishigaki Y, Okimoto H, Hasegawa H,

Koiwa Y, Katou M, Yamada T, Hinokio Y, Katagiri H, Kanai H, Sasaki T, Oka Y. Carotidarterial elasticity potentially evaluate minute vascular changes with postprandial hyperglycemia in non-diabetic subjects. 第42回日本動脈硬化学会総会 7月15-16日 岐阜

- 石垣 泰、鵜田 藍、長谷川英之、金井 浩、片桐 秀樹、佐々木 毅、岡 芳知 糖負荷後血糖上昇と血管性状変化の検討 第3回日本肥満症治療学会学術集会 9月10-11日 東京
- 石垣 泰、鵜田 藍、長谷川英之、金井 浩、片桐 秀樹、佐々木 毅、岡 芳知 糖負荷後の血糖上昇が血管性状に及ぼす影響の検討 第25回日本糖尿病合併症学会 10月22-23日 大津
- 河野ひろ子、金子 慶三、高木 正仁、山本 淳平、佐竹 千尋、角田宇衣子、山田 哲也、石垣 泰、森 悦朗、片桐 秀樹、岡 芳知 多腺性自己免疫症候群3型に抗GAD抗体関連辺縁系脳炎の合併が疑われた症例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 高橋 圭、長谷川 豊、近藤 敬一、金子 慶三、宇野 健司、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、片桐 秀樹、里見 進、岡 芳知 脳死下腎同時移植によりインスリン治療から離脱した1型糖尿病の一例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 山本 淳平、金子 慶三、河野ひろ子、高橋 圭、佐竹 千尋、角田宇衣子、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、片桐 秀樹、岡 芳知 自己免疫性1型糖尿病の良好な加療経過中に、劇症型に類似した急激な病態増悪を呈した一例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 宗像佑一郎、宇野 健司、佐竹 千尋、角田宇衣子、井泉 知仁、白井 勇太、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、片桐 秀樹、岡 芳知 10年にわたりインスリン非依存性に経過している緩徐進行1型糖尿病の一例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 角田宇衣子、石垣 泰、工藤 宏仁、丹治 泰裕、山口 賢、今井 淳太、山田 哲也、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 敗血症・DICを経て無事出産に至った1型糖尿病の1例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 工藤 宏仁、石垣 泰、丹治 泰裕、角田宇衣子、山口 賢、今井 淳太、山田 哲也、檜尾 好徳、片桐 秀樹、岡 芳知 低血糖脳症からの遷延した脳機能改善を認めた一例—SPECT画像による検討 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台
- 井泉 知仁、宇野 健司、白井 勇太、宗像佑一郎、金子 慶三、今井 淳太、山田 哲也、石垣 泰、片桐 秀樹、岡 芳知 画像所見上異なる特徴を示し

たインスリンローマの2例 第48回日本糖尿病学会東北地方会 11月6日 仙台

- 丹治 泰裕、山口 賢、薄井 正寛、富永 竜、近藤 敬一、石垣 泰、岡 芳知、石原 寿光 WFS1遺伝子欠損マウスにおけるDPP-4阻害薬(ビルダグリプチン)の膵β細胞保護効果の検討 第22回分子糖尿病学シンポジウム 12月4日 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他(研究に関する新聞記事等)
なし

Wolfram 症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と診療指針作成のための研究
分担研究者 山田祐一郎 秋田大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

Wolfram症候群では、WFS1遺伝子変異に伴い種々の細胞で小胞体ストレスが増加する。その結果、糖尿病・視神経萎縮・尿崩症・聴覚障害など多彩な症状が出現するため、QOLが著しく低下し生命予後も不良である。糖尿病は通常インスリン依存状態となり血清Cペプチドは検出されないことが多いが、Wolfram症候群と診断された症例にGLP-1受容体作動薬を投与することで、インスリン分泌能の改善し皮下投与するインスリン量の減少が得られた。すなわち、膵β細胞において、小胞体ストレスはアポトーシスを惹起するだけではなく、機能的にインスリン分泌機構を障害し、GLP-1受容体作動薬はインスリン分泌を改善することを示した。したがって、小胞体ストレスで障害されている細胞においても、細胞特異的なcAMP促進薬を開発することで機能の回復し、Wolfram症候群の治療につながる可能性が示唆された。

A. 研究目的

難治性疾患克服研究事業は、難治性疾患について、診断基準や治療ガイドラインの策定、さらに原因や臨床病態の解明などをおこなうことを主な目的としている。難治性疾患は、原因不明で治療法が確立されていないことや、後遺症を起こすおそれが多いこと、経過が慢性で経済的・精神的に負担が大きいことが特徴である。

Wolfram症候群は、原因遺伝子の一つとしてWFS1遺伝子が同定され、小胞体ストレスとの関連が報告されているが、糖尿病・視神経萎縮・尿崩症・聴覚障害など、多彩な症状がどのような機序で起こるかは、ほとんどわかっていない。

平成21年度には秋田大学医学部附属病院ならびに関連病院で診療したWolfram症候群の6名（2家系）の臨床所見を検討することで、遺伝子変異と臨床像との関連を調べたので、平成22年度にはWolfram症候群の治療の可能性を探索することを目的とした。

B. 研究方法

- ①すでに遺伝子変異（15bpの欠失、Inoue et al. Nat Genet 1999）のホモであることが同定されている1名の症例について、糖尿病・視神経萎縮・尿崩症・聴覚障害などの臨床所見を検索するとともに、GLP-1受容体作動薬の効果について検討する。なお、GLP-1受容体作動薬の投与については倫理委員会で承認されている。
- ②熊本大学江良教授との共同研究で、Wolfram症候群の症例から得られた線維芽細胞から、ヒト疾

患由来iPS細胞の樹立を目指す。

C. 研究結果

①Wolfram症候群ではインスリン依存状態の糖尿病を呈するが、本症例では空腹時の血清Cペプチドは0.06ng/mLであり、膵β細胞の枯渇とは言えない。尿崩症はデスマプレシン点鼻でコントロールされ、視神経萎縮は左眼にわずかな光覚があるのみである。

約38単位/日のインスリンの皮下注射でHbA1c（JDS値）は7.6%であったが、GLP-1受容体作動薬であるLiraglutideを投与することで、インスリン必要量は6単位に軽減した。空腹時のCペプチドも0.20ng/mL以上に増加した。

②「ヒト疾患由来iPS細胞の樹立とそれを用いた病態解析および治療法の研究」については、秋田大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会に申請し承認された。

D. 考察

Wolfram症候群は、世界的にも非常に稀であり、症例の臨床所見の蓄積ならびに治療法の開発が求められている。

Wolfram症候群の膵β細胞は小胞体ストレスによるアポトーシスで枯渇していると想定されていた。しかしながら、今回の検討で、Wolfram症候群の膵β細胞は、必ずしも枯渇していないこと、また、GLP-1受容体作動薬を投与することで、インスリン分泌能が改善し、インスリン必要量が減少することを確認した。すなわち、膵β細胞にお

いて、小胞体ストレスはアポトーシスを惹起するだけではなく、機能的にインスリン分泌機構を障害し、GLP-1受容体作動薬はインスリン分泌を改善すると考えられた。

GLP-1受容体作動薬は膵β細胞内cAMPを増加させることでインスリン分泌を促進する。小胞体ストレスで障害されている細胞においても、疾患iPS細胞を樹立し分化誘導することで、細胞特異的なcAMP濃度を増加させる薬（細胞特異的G蛋白共役受容体アゴニスト等）を開発し、Wolfram症候群の治療につながる可能性が示唆された。

E. 結論

Wolfram 症候群の症例で治療法の可能性を示すことができた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

3. 論文発表

- Narita T, Goto T, Suganuma Y, Hosoba M, Morii T, Sato T, Fujita H, Miura T, Shimotomai T, Yamada Y, Kakei M: Efficacy and safety of patient-directed titration of once-daily pre-dinner premixed biphasic insulin aspart 70/30 in Japanese type 2 diabetic patients with oral antidiabetic drug failure: STEP-AKITA study. *J Diabetes Invest* 2(1):63-70, 2011 .
- Ogawa E, Hosokawa M, Harada N, Yamane S, Hamasaki A, Toyoda K, Fujimoto S, Fujita Y, Fukuda K, Tsukiyama K, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N: The effect of gastric inhibitory polypeptide on intestinal glucose absorption and intestinal motility in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 404(1):115-120, 2011
- Kawasaki Y, Harashima S, Sasaki M, Mukai E, Nakamura Y, Harada N, Toyoda K, Hamasaki A, Yamane S, Yamada C, Yamada Y, Seino Y, Inagaki N: Exendin-4 Protects Pancreatic Beta Cells from the Cytotoxic Effect of Rapamycin by Inhibiting JNK and p38 Phosphorylation. *Horm Metab Res* 42(5):311-317, 2010.

4. 学会発表

- 田部勝也、太田康晴、奥屋茂、和田安彦、山田祐一郎、岡芳知、谷澤幸生：Wolfram 症候群の実態調査 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集

会 2010 年 5 月

- 山田祐一郎、福岡勇樹、細葉美穂子、阿部妹子、梶川麻里子、森井宰、藤田浩樹、月山克史、成田琢磨：シタグリプチン投与で食後過血糖が改善したミトコンドリア糖尿病の一例 第 48 回日本糖尿病学会東北地方会 2010 年 11 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他（研究に関する新聞記事等）
なし

Wolfram症候群の実態調査に基づく早期診断法の確立と診療指針作成のための研究

分担研究者 和田安彦 高知女子大学健康栄養学部 教授

研究要旨

患者およびその家族への聞き取り調査を行った。

本疾患の死亡原因として、特に脳幹萎縮のある場合は中枢性呼吸不全に注意する必要がある。しかし症状は多彩であり、神経内科的視点が重要である。

患者のQOL向上のために、管理栄養士やメーカーなどの活躍が期待される。

糖尿病や尿カテーテルなどの内科的課題の解決が患者のQOL向上にもっとも重要である。

疾病情報の普及と患者把握のために、全国盲ろう者協会などへの協力要請も視野に入れるべきである。

A. 研究目的

昨年度、分担研究者らは本疾患を患う患者さんのご家庭を訪問して医学的課題、日常生活上の困り事と求められる支援体制について聞き取り調査を行い、基礎的な情報を得た。その結果いくつかの問題点が明らかとなった。今年度は、その後の経過と更なる詳しい聞き取りを行い、医学的課題、支援体制の課題等を明らかにし、問題解決の手がかりを得ることを目的とした。

B. 研究方法

対象は東北地方在住2家族、2人の患者さん(30歳代半ばの男性、20歳代半ばの女性、既に死亡された方を含む)とその保護者の方々であった。2011年2月、患者さん宅を訪問し、ご本人およびご家族への聞き取り調査を行った。聞き取りの内容は、患者さんとご家族の療養上の課題、困難な事柄、および疑問点、ご希望・提案などである。

これまでの十数年の信頼関係を基礎に、事前に調査の目的を患者ご家族へ説明し、ご協力の了解を得た上で訪問した。調査は守秘義務を負っている医師および管理栄養士が倫理面を含め多面的に配慮しながら行った。また前年度の調査報告を行うなど、情報提供の点でも互恵的関係を築くよう心がけた。

C. 研究結果

症例1 (30歳代半ばの男性患者さんの死亡の経緯を家族から聴取した結果): 病態の理解と対策のためには詳しい経過が不可欠と判断し、長くなるが以下に詳細を記す。

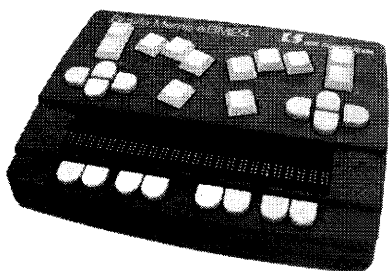
- 糖尿病、視神経萎縮、尿崩症、難聴、尿路障害、うつ状態、筋力低下、運動失調、嚥下障害などを有し、時に誤嚥性肺炎を発症している患者さんが、2010年2月のある土曜日に「具合が悪い」と訴えた

ため、家族が数十km離れたかかりつけの病院に自家用車で搬送。しかし移動の途中で改善したとのことで家に戻った。ただしその後も具合が悪そうであった。翌日曜日の朝になっても、具合がよくない状態(呼吸困難?)であった。すなわち体が前かがみで背中を丸めた格好でないと苦しい状況であった。「暑い」とも訴え、冷たい床に頭を付けている状態であった。そこで再度病院に自家用車で搬送することにした。車内では、普通に座ると苦しいらしく、背中を丸めた状態で座っていた。病院到着時、自力歩行困難のため、車いすに乗せたが、前のめりで座るため落ちてしまい、結局ストレッチャーで何とか救急外来まで運んだ。苦しい、暑いと訴え、冷たい床の上に丸まった格好で横たわり、上半身の衣服を脱いでしまった。病院スタッフからはただ暴れている様には見えなかったのではと家族は推測した。なお、気道が狭くなった様な音やヒューヒュー音は無かった。他科当直医が診察し、胸部レントゲン検査で肺炎の像なし、血液検査異常なし、発熱なし。心療内科の受診歴あることから精神科医師が呼ばれた。精神的興奮で血圧上昇となったとの説明で精神安定剤が注射された。注射後、それまでの丸まった姿勢が無くなり、しばらく静かに横になって寝ていたが、目を覚ましたらそれまで以上に尋常でないくらい苦しがり始めた(15:00頃)。医師は「明日また来て下さい」と告げた。家族はこんなに苦しんでいるのだからと、しばらく置いてくれるよう強く希望。しかし受け入れられなかった。救急外来から自家用車のところまで這って行くことも困難で、しまいには医師と看護師が患者の上下肢を持って車に押し込む形になった。家族は、病院側は暴れる患者を置いておきたくないのだ、この子が邪魔なんだと、その時思った。家に着いてからもなかなか動けない

状態で、2人がかりで上下肢をもって車から家の中に運んだ。おかゆを用意したがほとんど食べなかった。20時か21時頃、インスリンN自己注射のことを本人が気にしたため、家族が注射してやった。21時半頃、病院から処方された精神安定剤(ホリゾン)を内服。30分後静かになり、眠ったと思った。しかし23:30~24時頃、呼吸をしていない事に家族が気づき、消防に連絡。消防士が到着したときには心肺停止状態で、人工呼吸とAEDを施行された。その後、救急隊員により気管内挿管され近くの救急外来に搬送。その途中、心拍が戻った。病院到着後、人工呼吸継続により一時的に自発呼吸が戻った。植物状態になる可能性を告げられ、永続的な人口呼吸器装着は断った。再度自発呼吸と心停止で、翌月曜日の朝8時に一度死亡宣告。数分後心拍再開して1~2分続くも再び停止、ということ繰り返す、最終的に10:30ころ死亡確認。

症例2 (20歳代半ばの女性患者さんの日常生活の課題などを本人と家族から聴取した結果):

- 糖尿病、視神経萎縮、尿崩症、難聴、尿路障害、筋力低下などの症状がある患者さんである。視覚は周囲の明るさが分かる程度の視力で、聴覚は大きな声は聞き取れる。
- 食べるのが楽しみで、月に一回外食をしている。でも、以前よりは咽るようになってきた。水では咽ないが、リンゴを食べたときの汁気などで咽る。咽頭のむずむず感がある、これが原因で咽ているのかもしれない。また、乾くとのどがペタッと張り付く感じがある。
- 季節による血糖の変動がある。12月~1月は血糖が下がりやすい。そのため普段打つインスリン量(9単位)よりも2単位下げている。
- インスリンの注射器の残量が自分一人ではわからないでとまどう。また血糖測定用の採血器に血液を取るとき(血液などが)見えなくて困る。
- パソコンを使ってネットからの情報を取ったり、メールのやり取りをしている。そのために点字をリアルタイムで表示できるキーボード(点字ディスプレイ、Braille Memo 24、ケージーエス株式会社、埼玉県小川町)を使用している(図)。



- 盲ろう者用の道具を探すのが困難である。新しい

のを買っても慣れるのに大変だし、変えるのも大変である。

- (患者同士の交流について) 患者同士が直接会うのは難しいと思う。連れて行くのも大変だし、家においておくのも不安。体調も変動が大きいので、ウォルフラム症候群の人は家から出られない人もいると思う。
- 「全国盲ろう者協会」(会員 600~700人、<http://www.jdba.or.jp/>)に入っている。この協会の全国大会に参加したことがあり、点訳のボランティアがリアルタイムにテープに点字を打出してくれる。
- 全国の盲ろう者では、アッシュヤー症候群の人が多いようであり、全国盲ろう者協会が出している情報誌「コミュニカ」ではアッシュヤー症候群は特集があったりして結構知られている。しかし、ウォルフラム症候群は知られていない。そこで「コミュニカ」に同じ病気の患者さんがいないかどうかを含め記事を投稿してはどうか(患者さん本人からの提案)。
- 眼の見えないのはいい。何とも思わない。ただ、内科的な問題が一番嫌だ。糖尿病さえ治れば…。人に迷惑をかけたくない。低血糖とか突然くるし、嫌で嫌でしょうがない。生活の幅は狭まるし、行動が狭まってくる。
- 尿カテーテルがあるから、皆と一緒に風呂に行けない。観光地ではトイレは身障者用のものを使う必要があるが、(時間がかかるため)外で並んで待っている人から文句を言われることがある。カテーテルのため洋式トイレの方が使いやすい。電車のトイレは和式なので困る。

D. 考察

(医学的、病態上の課題)

- Wolfram症候群の主要な死亡原因は脳幹萎縮から来る中枢性呼吸不全によると報告されている(Barrett TG et al. 1995, Lancet)。今回調査した症例1の死因も肺炎像や炎症所見が見られなかったとのことなので、最終的には同様の中枢性呼吸不全であったと思われる。しかし、苦しみが始まった時の体幹部を丸める姿勢や暑がって服を脱いでしまうという苦悶の病態が何だったのかの疑問が残される。文献検索の結果、中枢性に咽頭が麻痺して声帯に狭窄が生じ、やがて無呼吸に至った症例の報告が見つかった(Scolding NJ et al. 1996, Ann Neurolの症例1)。しかし、今回は狭窄音は無かったようで、これとは異なる病態と思われる。同じ報告の症例2では、精神錯乱で入院して中枢性呼吸不全と診断されたとの記述が見られた。今回はこれに近い病態であったと考えられる。その他の可能性としては体幹部(腹部)のけいれんによつ

て苦悶が生じたという病態である。いずれ当事者が集い、診療録の情報と合わせて今回の病態解明を行うことが必要である。

- Wolfram症候群は多彩な症状を呈することがこれまでの報告からも明らかであり、幅広い可能性を想定する必要がある。例えばWolfram症候群の診断がついていない型糖尿病症例で、中枢性呼吸不全と運動失調およびパーキンソニズムで入院し、神経内科で本疾患の診断がついた例も報告されている(Waschbisch et al. 2010, J Neurolog Sciences)。今回のような脳幹部の萎縮がある場合は特に、神経内科的な診察と検査によって病態を把握することの重要性が示唆された。

(支援体制上の課題)

- リンゴの果汁などで咽せるなどの嚥下障害に関しては管理栄養士等が積極的に関われる課題と考えられ、それには専門家への知識の普及が不可欠である。
- 自己注射や血糖測定の機器に関しては、視覚障害者のためのさらなる工夫・改良が必要である。
- パソコンや周辺機器の進歩により盲ろう者もかなり情報のやり取りが可能となってきているようだが、まだまだ機種が少なくメーカーや研究者の更なる努力に期待したい。
- 血糖コントロールの難しさや尿カテーテルの存在によって日常生活が制限される。とくに自宅を離れた旅行に困難が伴うことから、患者同士の交流をやりたくても難しい側面がある。いろいろな障害のうち、内科的障害が患者にとって最大の克服すべき課題である。
- 全国盲ろう者協会の情報誌にWofram症候群に関する記事を載せる事によって、患者が見つかる可能性があることを、患者本人から提起された。全国の盲ろう者は約2万人いると言われており、会員600~700人はこれに比して少ないが、患者擁護団体等の設立の際の核となる可能性もあり、この提案を考慮すべきではないか。

E. 結論

本疾患の死亡原因として、特に脳幹萎縮のある場合は中枢性呼吸不全に注意する必要がある。しかし症状は多彩であり、神経内科的視点が重要である。

患者のQOL向上のために、管理栄養士やメーカーなどの活躍が期待される。

糖尿病や尿カテーテルなどの内科的課題の解決が患者のQOL向上にもっとも重要である。

疾病情報の普及と患者把握のために、全国盲ろう者協会などへの協力要請も視野に入れるべきである。

研究協力者: 古川弘子 高知女子大学健康栄養学部 助教

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

5. 論文発表

- Eshak ES, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, Wada Y, Wakai K, Tamakoshi A; JACC Study Group. Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women. J Nutr. 2010, 140: 1445-53.
- Inoue Y, Wada Y, Motohashi Y, Koizumi A. History of blood transfusion before 1990 is associated with increased risk for cancer mortality independently of liver disease: a prospective long-term follow-up study. Environ Health Prev Med. 2010, 15: 180-187.
- Mineharu Y, Koizumi A, Wada Y, Iso H, Watanabe Y, Date C, Yamamoto A, Kikuchi S, Inaba Y, Toyoshima H, Kondo T, Tamakoshi A. Coffee, green tea, black tea and oolong tea consumption and risk of mortality from cardiovascular disease in Japanese men and women. J Epidemiol Community Health. 65: 230-40.
- 和田安彦、小泉昭夫. 遺伝疫学. In: 塩谷隆信, 編. 遺伝性出血性末梢血管拡張症(HHT)の診療マニュアル. 東京: 中外医学社; 2011. P. 11- 16.

6. 学会発表

Shanika Nanayakkara, 原田浩二、人見敏明、板井一好、和田安彦、渡辺孝男. Endemic chronic kidney disease of unknown etiology in north central region of Sri Lanka is a disease induced by focal renal ischemia. 第80回日本衛生学会学術総会、2010年5月9~11日、仙台。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他(研究に関する新聞記事等)
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tominaga R, Yamaguchi S, Satake C, Usui M, Tanji Y, Kondo K, Katagiri H, <u>Oka Y</u> , Ishihara H.	The JNK pathway modulates expression and phosphorylation of the translational suppressor 4E-BP1 in MIN6 pancreatic b cells under oxidative stress conditions.	Cell Biochemistry & Function	28(5)	387-93	2010
Hosaka M, Mimura A, Asayama K, Ohkubo T, Hayashi K, Kikuya M, Sato M, Hashimoto T, Kanno A, Hara A, Obara T, Metoki H, Inoue R, Hoshi H, Satoh H, <u>Oka Y</u> , Imai Y.	Relationship of dysregulation of glucose metabolism with white-coat hypertension: the Ohasama study.	Hypertension Research	33	937-43	2010
Suzuki T, Imai J, Yamada T, Ishigaki Y, Kaneko K, Uno K, Hasegawa Y, Ishihara H, <u>Oka Y</u> , Katagiri H.	Interleukin-6 enhances glucose-stimulated insulin secretion from pancreatic β -cells: potential involvement of the PLC-IP3 dependent pathway.	Diabetes	60(2)	537-47	2010
Nakatsu Y, Sakoda H, Kushiyama A, Ono H, Fujishiro M, Horike N, Yoneda M, Ohno H, Tsuchiya Y, Kamata H, Tahara H, Isobe T, Nishimura F, Katagiri H, <u>Oka Y</u> , Fukushima T, Takahashi S, Kurihara H, Uchida T, Asano T.	Pin1 associates with and induces translocation of CRTC2 to the cytosol, thereby suppressing cAMP-responsive element transcriptional activity.	J Biol Chem	285(43)	33018-27	2010
Narita T, Goto T, Suganuma Y, Hosoba M, Morii T, Sato T, Fujita H, Miura T, Shimotomai T, <u>Yamada Y</u> , Kakei M	Efficacy and safety of patient-directed titration of once-daily pre-dinner premixed biphasic insulin aspart 70/30 injection in Japanese type 2 diabetic patients with oral antidiabetic drug failure: STEP-AKITA study.	J Diabetes Invest	2(1)	63-70	2011
Ogawa E, Hosokawa M, Harada N, Yamane S, Hamasaki A, Toyoda K, Fujimoto S, Fujita Y, Fukuda K, Tsukiyama K, <u>Yamada Y</u> , Seino Y, Inagaki N	The effect of gastric inhibitory polypeptide on intestinal glucose absorption and intestinal motility in mice.	Biochem Biophys Res Commun	404(1)	115-120	2011
Kawasaki Y, Harashima S, Sasaki M, Mukai E, Nakamura Y, Harada N, Toyoda K, Hamasaki A, Yamane S, Yamada C, <u>Yamada Y</u> , Seino Y, Inagaki N	Exendin-4 Protects Pancreatic Beta Cells from the Cytotoxic Effect of Rapamycin by Inhibiting JNK and p38 Phosphorylation.	Horm Metab Res	42(5)	311-317	2011
Eshak ES, Iso H, Date C, Kikuchi S, Watanabe Y, <u>Wada Y</u> , Wakai K, Tamakoshi A; JACC Study Group.	Dietary fiber intake is associated with reduced risk of mortality from cardiovascular disease among Japanese men and women.	J Nutr.	140	1445-53	2010

Inoue Y, <u>Wada Y</u> , Motohashi Y, Koizumi A.	I History of blood transfusion before 1990 is associated with increased risk for cancer mortality independently of liver disease: a prospective long-term follow-up study.	Environ Health Prev Med.	15	180-187	2010
Mineharu Y, Koizumi A, <u>Wada Y</u> , Iso H, Watanabe Y, Date C, Yamamoto A, Kikuchi S, Inaba Y, Toyoshima H, Kondo T, Tamakoshi A.	Coffee, green tea, black tea and oolong tea consumption and risk of mortality from cardiovascular disease in Japanese men and women.	J Epidemiol Community Health.	65	230-40	2011
<u>和田安彦</u> 、小泉昭夫.	遺伝疫学. In: 塩谷隆信, 編. 遺伝性出血性末梢血管拡張症 (HHT) の診療マニュアル.	東京: 中外医学社		11-16	2011
Levy-Marchal C, Arslanian S, Cutfield W, Sinaiko A, Druetl C, Marcovecchio ML, Chiarelli F, on behalf of ESPE-LWPES-ISPAD-APPES-APEG-SLEP-JSPE and the Insulin Resistance in Children Consensus Conference Group (<u>Amemiya S</u> as a representative of JSPE):	Insulin Resistance in Children: Consensus, Perspective and Future Directions Metab	J Clin Endocrinol Metab	95(12)	5189-5198	2010
<u>雨宮 伸</u>	小児・思春期糖尿病における日本人の特性と今後課題	日児誌	115(1)	13-19	2011
<u>雨宮 伸</u>	小児におけるインスリン抵抗性: コンセンサス、展望および将来の方向性 (翻訳)	日児誌	115(1)	20-32	2011
<u>雨宮 伸</u>	糖尿病の子どもと学校教育	教育と医学	685(7)	658-667	2010
Hatanaka M, Tanabe K, Yanai A, Ohta Y, Kondo M, Akiyama M, Shinoda K, Oka Y, <u>Tanizawa Y</u> .	Wolfram syndrome 1 gene (WFS1) product localizes to secretory granules and determines granule acidification in pancreatic β -cells.	Hum Mol Genet.	20	1274-84	2011
Tanabe K, Liu Y, Hasan SD, Martinez SC, Cras-Méneur C, Welling CM, Bernal-Mizrachi E, <u>Tanizawa Y</u> , Rhodes CJ, Zmuda E, Hai T, Abumrad NA, Permutt MA.	Glucose and Fatty Acids Synergize to Promote β -Cell Apoptosis through Activation of Glycogen Synthase Kinase 3 β Independent of JNK Activation.	PLoS ONE	6	e18146	2011
太田康晴、 <u>谷澤幸生</u>	膵 β 細胞死	臨床検査	54	1040-1047	2010
松永仁恵、 <u>谷澤幸生</u>	Wolfram症候群	月刊糖尿病	3	50-57	2011
<u>谷澤幸生</u>	糖尿病の遺伝子診断・治療と生命倫理	糖尿病ナビゲータ 第2版 (編集 門脇 孝)		324-325	2010

The JNK pathway modulates expression and phosphorylation of 4E-BP1 in MIN6 pancreatic β -cells under oxidative stress conditions

Ryu Tominaga¹, Suguru Yamaguchi^{1,2}, Chihiro Satake¹, Masahiro Usui¹, Yasuhiro Tanji¹, Keiichi Kondo¹, Hideki Katagiri³, Yoshitomo Oka^{1*} and Hisamitsu Ishihara^{1,4}

¹Division of Molecular Metabolism and Diabetes, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Miyagi, Japan

²Institute for International Advanced Research and Education, Tohoku University, Sendai, Miyagi, Japan

³Division of Advanced Therapeutics for Metabolic Diseases, Center for Translational and Advanced Animal Research, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

⁴Division of Diabetes and Metabolism, Nihon University School of Medicine, Itabashi, Tokyo, Japan

Stress-mediated apoptosis may play a crucial role in loss of pancreatic β -cell mass, contributing to the development of diabetes. We have recently identified that translational control involving the translational suppressor eIF4E binding protein-1 (4E-BP1) which is important for β -cell survival under endoplasmic reticulum (ER) stress. The *Eif4ebp1* gene, encoding 4E-BP1, is a direct target of a transcription factor activating transcription factor-4 (ATF4), a master regulator of gene expression in stress responses. In the current study, we investigated 4E-BP1 expression in mouse insulinoma line 6 (MIN6) cells treated with arsenite, an inducer of oxidative stress which is another contributor of β -cell loss. We found that arsenite-induced 4E-BP1 expression level was lower than that induced by thapsigargin, an ER stress inducer, although ATF4 was similarly induced by these agents. The ratio of the dephosphorylated form of 4E-BP1, which has the highest activity, to phosphorylated forms was, however, greater in MIN6 cells treated with arsenite as compared to that in thapsigargin-treated cells. Arsenite-induced 4E-BP1 mRNA and protein expressions were augmented by simultaneous treatment with a c-Jun N-terminal kinase (JNK) specific inhibitor, SP600125. The agent also suppressed the level of the dephosphorylated form of 4E-BP1 in arsenite-treated MIN6 cells. Thus, JNK activated by oxidative stress is involved in the modulation of 4E-BP1 expression and phosphorylation in MIN6 cells, which may contribute to fine tuning of translational control under stress conditions. Copyright © 2010 John Wiley & Sons, Ltd.

KEY WORDS — oxidative stress; ER stress; 4E-BP1; JNK; pancreatic β -cells

ABBREVIATIONS — ATF4, activating transcription factor-4; ATF6, activating transcription factor-6; CHOP, C/EBP-homologous protein; eIF2 α , eukaryotic initiation factor-2 α ; eIF4E, eukaryotic initiation factor 4E; ER, endoplasmic reticulum; GRP78, glucose-regulated protein 78kDa; IRE1, inositol requiring enzyme-1; ISR, integrated stress response; JNK, c-Jun N-terminal kinase; MIN6, mouse insulinoma line 6; mTOR, mammalian target of rapamycin; PERK, PKR (double-stranded-RNA-dependent protein kinase)-like endoplasmic reticulum kinase; PI3K, phosphoinositide 3-kinase; 4E-BP1, eIF4E binding protein-1;

INTRODUCTION

Decreased pancreatic β -cell mass is a common feature in subjects with type 2 diabetes mellitus.^{1,2} Stress-mediated apoptosis is considered as one of the causes of β -cell loss. Pancreatic β -cells are vulnerable to a variety of stress conditions: continuous and abundant production of insulin renders β -cells vulnerable to Endoplasmic reticulum (ER) stress.³ Low levels of expression of anti-oxidant proteins

make this cell types prone to oxidative stress-mediated cell damage.⁴ Furthermore, β -cells have been documented to be more sensitive to hypoxic conditions.⁵

ER stress is triggered when the amount of unfolded and misfolded proteins exceeds the folding capacity of the ER. To cope with this stress, cells activate intracellular signaling pathways, termed the unfolded protein response (UPR).⁶ Transducers of the UPR include three ER transmembrane proteins: PKR (double-stranded-RNA-dependent protein kinase)-like ER kinase (PERK), inositol requiring enzyme-1 (IRE1), and activating transcription factor-6 (ATF6). These ER stress sensor proteins initiate three arms of UPR to maintain ER homeostasis. The first step against ER stress is to prevent the accumulation of newly

*Correspondence to: Y. Oka, Division of Molecular Metabolism and Diabetes, Tohoku University Graduate School of Medicine, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai, Miyagi 980-8575, Japan. Tel: +81 22 717 7611, Fax: +81 22 717 7612. E-mail: oka-y@mail.tains.tohoku.ac.jp

Received 29 September 2009
Revised 23 February 2010
Accepted 29 March 2010