

2021年9月28日

国際医療福祉大学広報部  
〒107-8402 東京都港区赤坂 4-1-26  
TEL 03-5574-3828 FAX 03-5574-3827  
E-mail: press@iuhw.ac.jp

## 糖尿病初期段階を毛でとらえることに成功

### 研究成果のポイント

- ・世界で最も小さい光検出器（マイクロ PMT）をもちいた遺伝子発現計測システムを開発し、自由行動マウスの時計遺伝子発現を糖尿病発症前後においてリアルタイムに超高感度計測に成功。
- ・糖尿病発症前の未病段階（血糖値が正常値レベル）過程において、体毛で時計遺伝子発現を検出することで糖尿病の極めて初期段階を簡易にとらえることに成功。
- ・糖尿病発症時期（血糖値が異常レベル）はヒゲ1本からとらえることができ、将来的にヒト糖尿病初期段階の検出法に貢献できる可能性が考えられる。

### 研究成果の概要

自由行動マウスの脳内および末梢組織の遺伝子発現を超高感度で長期間計測するシステムを開発し、糖尿病が発症する過程において時計遺伝子 *Period1* (*Per1*) 発現変化をリアルタイムに計測することに成功しました。糖尿病が重篤化する前に *Per1* 発現が一過性に上昇し、その後、糖尿病を示す高血糖および行動睡・眠覚醒リズムが消失し、糖尿病が重篤化する過程において、糖尿病が発症する前の未病段階で急激な *Per1* 遺伝子発現は体毛から、糖尿病発症時にはヒゲから検出でき、今後、糖尿病の極めて初期段階の発症機構研究に大きく貢献できる可能性が考えられます。この研究成果は、国際医療福祉大学薬学部の浜田俊幸 准教授が中心となって実施し、Biochemical and Biophysical Research Communications 誌に発表されました。

### 論文発表の概要

研究論文名：

*The analysis of Period1 gene expression in vivo and in vitro using a micro PMT system*  
(マイクロ PMT をもちいたインビボおよびインビトロにおける *Period1* 遺伝子発現解析)

著者、所属：Hamada K<sup>1</sup>, Ishii Y<sup>1</sup>, Yoshida Y<sup>1</sup>, Nakaya M<sup>1</sup>, Sato Y<sup>1</sup>, Kanai M<sup>1</sup>, Kikuchi Y<sup>1</sup>, Yamaguchi T<sup>1</sup>, Iijima N<sup>1</sup>, Sutherland K<sup>2</sup>, Hamada T<sup>1,2</sup> (浜田和子<sup>1</sup>, 石井悠暉<sup>1</sup>, 吉田幸那<sup>1</sup>, 中屋美月<sup>1</sup>, 佐藤良祐<sup>1</sup>, 金井恩熙<sup>1</sup>, 菊池祥裕<sup>1</sup>, 山口剛史<sup>1</sup>, 飯島典生<sup>1</sup>, ケネス・リー・サザーランド<sup>2</sup>, 浜田俊幸<sup>1,2</sup>, <sup>1</sup>国際医療福祉大学、<sup>2</sup>北海道大学)

公表雑誌：Biochemical and Biophysical Research Communications (9月3日 on line 公表)

## (背景)

近年、豊富な食料と食生活の変化は世界の多くの国で糖尿病を急激に増加させている。日本国内において「糖尿病が強く疑われている人」と「糖尿病の可能性を否定できない人」をあわせると約2000万人にもものぼる。糖尿病は発症してからはさまざまな合併症を誘発し重篤化するため、極めて初期段階に検出することが重要です。

糖尿病と体内時計の間には密接な関係が報告されており、日々の食生活の乱れや不規則な生活は、生体リズムの乱れを誘発し、睡眠障害や糖尿病などの危険因子として作用します。近年の24時間体制社会という生活様式の変化によって、私たちは体内時計の乱れを感じることなく日々過ごしています。体内時計の乱れは生体各組織の時計遺伝子発現リズムを光イメージングの技法をもちいて同時計測することで可能となります。全身に発現している時計遺伝子の発現リズムを各組織毎に計測することで神経活動リズムの活動マーカーとして使用でき、全身の各組織の活動リズムが計測可能になります。しかしながら技術的困難さから長期計測は不可能でした。これまでに私たちは、技術的な壁を打ち破るべく、生物発光を利用した<sup>1</sup>新規4Dイメージングシステムを開発し、生体体表6部位から *Per1* 遺伝子発現リズムを同時計測し、生体リズムが乱れる過程を世界で初めて可視化することに成功し、さらに生体深部組織特異的に遺伝子発現を長期間リアルタイムに計測するために携帯型光量計測機器、組織密着型センサーを開発し<sup>2</sup>、脳深部、生体深部、表層部位の遺伝子発現計測システムを確立してきました。

今回、世界最少光電子増倍管 (micro PMT:  $\mu$  PMT)<sup>3</sup> を用いて糖尿病の発症初期段階を、極めて高感度に時計遺伝子 *period1* (*Per1*) の発現リズムを指標として検出するシステム構築を試みました。

## (研究手法と結果)

時計遺伝子 *Per1* プロモーターに *luciferase* (*Luc*) を結合させた *Per1-luc* トランスジェニックマウスに連続的にルシフェリンを投与し、生物発光計測により *Per1* 遺伝子発現を計測した。糖尿病を誘発する薬物ストレプトゾトシン (STZ) を単回腹腔内投与し、糖尿病モデルマウスを作製した。これまでに STZ 投与後、血糖値が正常レベルの段階で *Per1* 遺伝子発現が急激に上昇し、遺伝子発現リズムが消失、それに伴い血糖値が徐々に上昇し血糖値が糖尿病レベルに達し、行動リズムも消失することで糖尿病が重篤化することを報告している<sup>4</sup>。

今回、糖尿病の極めて初期段階である *Per1* 遺伝子発現上昇時期を極めて高感度に顕出するため  $\mu$  PMT をもちいた顕出システムを構築しました。 $\mu$  PMT の遺伝子発現検出感度を調べるため動物個体レベルでの *Per1* 遺伝子発現リズム計測では  $\mu$  PMT を皮下に移植し、自由行動条件下で *Per1* 遺伝子発現を長期間計測した。これまでに開発にした組織密着型センサー (TCS) と比較して *Per1* 遺伝子発現を少なくとも260倍以上高感度に検出できることを明らかにしました<sup>5</sup>。簡易的に糖尿病の初期段階の検出は毛を用いて検出することに成功しました<sup>6</sup>。体毛は血糖値が正常な時期に *Per1* 遺伝子発現場を示し、ヒゲでは血糖値が糖尿病を示す時期に初めて *Per1* 遺伝子発現が増加することを発見しました。

### (今後への期待)

世界最少 PMT を用いた遺伝子発現計測システムを構築することに成功したことにより、超高感度に微妙な遺伝子発現変化を組織レベルから個体レベルまで長期間計測量が可能になりました。血中グルコース量の変化に対する体毛とヒゲの *Per1* 遺伝子発現の反応が異なることを利用し毛をサンプリングした時の *Per1* の発現リズムと発現量から体の健康状態を知ることが可能になると推測されます。本研究により糖尿病を発症していないが「将来糖尿病になることが強く推測される人」の時計遺伝子発現と糖尿病発症ステージの関係性が明らかになると考えられます。糖尿病予防方法の確立にも大きく貢献でき、生体リズムを整えることで糖尿病誘発を抑えることが可能となると期待できます。将来的にはヒトから毛を採取し PCR で時計遺伝子 *Per1* 遺伝子を検出し、「糖尿病が強く疑われている人」を同定できるシステム構築に大きく貢献できる可能性も考えられます。

### お問い合わせ先

国際医療福祉大学広報部 TEL 03-5574-3828 FAX 03-5574-3827  
E-mail: [press@iuhw.ac.jp](mailto:press@iuhw.ac.jp)

研究者：国際医療福祉大学薬学部 年齢軸生命機能解析学分野 准教授  
浜田 俊幸（はまだ としゆき）

TEL: 0287-24-3481, FAX :0287-24-3521, E-mail: [toshi-ha@iuhw.ac.jp](mailto:toshi-ha@iuhw.ac.jp)

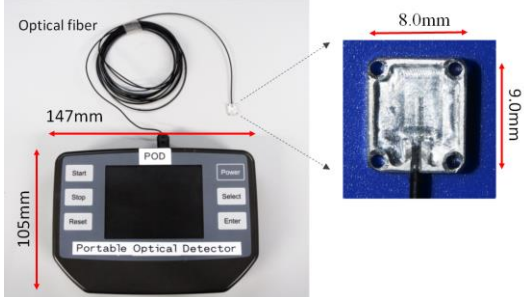
## 【用語説明】

### 1. 生物発光計測

ホタルの光に代表される生物発光を用いた計測手法。ルシフェラーゼ（発光酵素）と発光基質ルシフェリンによる反応により発光が生じる。

### 2. 組織密着型センサー（TCS）

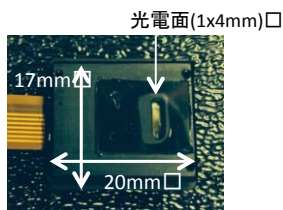
組織に密着させ組織を傷つけることなく発光量を計測する。携帯発光計測器に接続し使用することで場所を選ばず使用できる（Hamada K. et al., BBRC, 529, p898-p903, 2020）。検出する光波長領域は可視光領域の全領域をカバーしている。



携帯発光計測器(左図)と組織密着型センサー(右図)

### 3. 世界最少光電子増倍管 (micro PMT: $\mu$ PMT)

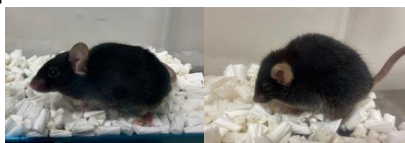
光電子増倍管は光センサーの中でも極めて高感度、高速応答な光検出器です。 $\mu$ PMTは、シリコン基板を2枚のガラス基板で挟み込んだ3層構造で構成されているため小型PMTの形状をとることができます。1mmx4mmの光電面を介して光量を計測します。本研究では $\mu$ PMT（浜松ホトニクス）を特殊加工したものを使用しています。



## 【補足図】

### 4. STZのPer1-lucマウスへの作用 (Kanou H et al., BBRC., 560, 14-20, 2021)

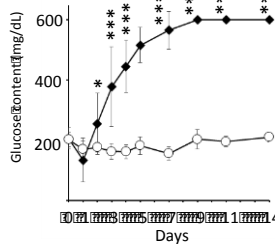
A□



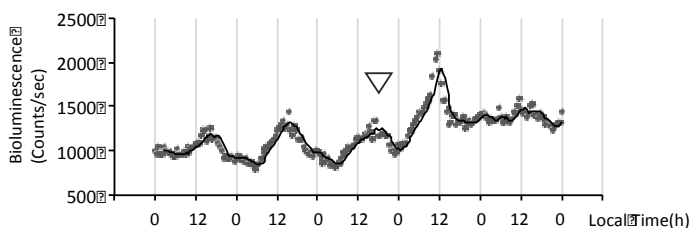
day0□

day14□

B□



C□

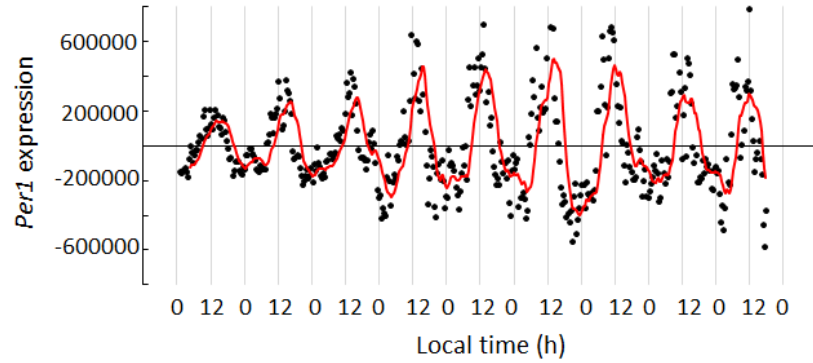


- STZ 投与日 (day0) と投与 14 日目の *Per1-luc* マウスの外見上の変化  
糖尿病の重篤化にともない背を丸める姿勢をとり毛並みが悪くなります。
- STZ 投与による血中グルコース量の変化。STZ 投与日を day0 としている。  
3 日目から高血糖 (400mg/dl 以上) が維持され糖尿病を発症している。
- STZ 投与した *Per1-luc* マウスの肝臓における *Per1* 遺伝子発現リズム。  
▽のところ STZ (200mg/kg) を腹腔内投与している。STZ 投与後、急激な *Per1* 遺伝子発現上昇が惹起され、その後 *Per1* 遺伝子発現リズムが消失します。

5. *In vivo* 計測：自由行動マウスの背中皮膚における *Per1* 遺伝子発現リズム計測

左下図は  $\mu$  PMT を装着したマウスを示している。マウスの行動に影響を与えることなく長期間 *Per1* 遺伝子発現をリアルタイムに計測する。

右下図は自由行動マウス皮膚の *Per1* 遺伝子発現リズムを示している。TCS をもちいた計測よりも少なくとも 260 倍以上の感度で検出できます。  $\mu$  PMT への電圧をさらに上げることでより高感度に検出することができます。



6. *In vitro* 計測：マウス毛からの *Per1* 遺伝子発現計測

左下図は  $\mu$  PMT による毛の *Per1* 遺伝子発現計測システムを示しています。毛からの細胞抽出液を  $\mu$  PMT 光電面にのせて *Per1* 遺伝子発現を光量を計測することで解析しました。

右下図は  $\mu$  PMT によるヒゲ 1 本からの *Per1* 遺伝子発現を定量化したものです。STZ 投与日を day0 を STZ 投与日としています。Day2 は血糖値が 400mg/dl 付近になり糖尿病を発症する時期です。ヒゲの *Per1* 発現は糖尿病発症時期に増加します。一方、体毛の *Per1* は血糖値が正常範囲の day0 に *Per1* 発現量が有意に増加します。ヒゲと体毛の *Per1* 発現量を比較することで糖尿病発症ステージの段階が分かり、体の健康状態を知ることが可能になると推測されます。

