

医学博士岡本 宏氏の「実験糖尿病の発症とその防止に関する研究」に対する授

賞審査要旨

糖尿病は、心筋梗塞、脳卒中、高血圧などを引き起こす危険因子であり、また腎不全、失明、感染症、壊疽による下肢切断など、深刻な合併症を伴うことが多い。現在、我が国ではいわゆる糖尿病予備軍を含めた患者総数は、中高年者の四ないし五人に一人である。糖尿病は、膵臓から分泌されるインスリンというホルモンの異常によるが、その発症のメカニズムは複雑で不明な点が多く、根本的な治療法が存在しない。岡本氏の研究は実験動物を用いて糖尿病の発症のメカニズムを明らかにして、新しい薬物による治療、再生医療、遺伝子治療の可能性を示した極めて独創的、かつ画期的な業績である。

一、インスリン分泌細胞の死とその防止のメカニズムの解明

アロキサン、ストレプトゾトシンという化学物質を動物に投与するとインスリン分泌細胞が死滅し、実験糖尿病が発症するが、その

メカニズムは不明であった。岡本氏はアロキサン、ストレプトゾトシンがインスリン分泌細胞に作用すると、「活性酸素などのフリーラジカルによるDNAの損傷→ポリADPリボース合成酵素の活性化→細胞のエネルギー産生に必要な生体物質NAD（ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）の枯渇→細胞の機能停止と死」という、この細胞が死に至る一連の過程を明らかにした。このメカニズムは「岡本モデル」として欧米の糖尿病の教科書（Molecular and Cellular Biology of Diabetes Mellitus、1版、Draznin, B, Melmed, S. & LeRoith, D. 編著、Alan R. Liss社、New York、一三〇頁、一九八九年など）に図入りで引用されている。そして実験的にラジカル消去剤、ポリADPリボース合成酵素阻害剤の投与や、ポリADPリボース合成酵素を欠失させたノックアウトマウスでこの細胞の死が起こらなくなり、糖尿病が発症しないことが確認された。さらに、脳梗塞や心筋梗塞、放射線による細胞死など、急激に起きる種々の細胞の死も上記のメカニズムで説明できることが報告され、同氏の研究はインスリン分泌細胞にとどまらず、種々の細胞の死を理解するモデルとしてその重要性が認識されてきた。

二、新しいインスリン分泌機構とその異常の解明

岡本氏はインスリン分泌細胞のNADの低下が軽度で、細胞が死

に至らないような場合でも、NADから作られるサイクリックADPリポースという環状化合物が低下し、この細胞の最も重要な機能であるブドウ糖刺激に応答したインスリン分泌が低下することを見出した。そして、CD38とγ-300アミノ酸から成る蛋白質はNADからサイクリックADPリポースを合成し、さらにこれをADPリポースに分解する酵素であること、サイクリックADPリポースは小胞体（細胞内Ca²⁺貯蔵庫）からCa²⁺を放出させること、CD38を欠失させたノックアウトマウスではサイクリックADPリポースが作られず、インスリン分泌が激減していることを確かめ、「ブドウ糖刺激→ブドウ糖代謝による細胞内ATP濃度の上昇→ATPによるCD38

のサイクリックADPリポース分解活性の抑制→サイクリックADPリポースの蓄積→小胞体からのCa²⁺放出→インスリン分泌」という新しいインスリン分泌機構（CD38サイクリックADPリポース情報伝達系）を解明した。同氏はさらにCD38の遺伝子異常や自己抗体をヒト糖尿病患者に見出し、この情報伝達系の異常がヒト糖尿病発症の一因となっていることを示した。岡本氏が見出した新しい情報伝達系の研究は、従来から考えられていた細胞外からのCa²⁺流入だけでなく、サイクリックADPリポースによる小胞体からのCa²⁺放出によってもインスリン分泌が起きることを示したものである。また、同氏の研究が契機となり種々の動植物細胞の機能にCD38サイ

クリックADPリポース情報伝達系が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。

三、インスリン分泌細胞の再生機構と再生遺伝子Regの発見

岡本氏はアロキサン・ストレプトゾトシン糖尿病だけでなく、膵切除による糖尿病モデル即ち九〇%膵切除ラットにポリADPリポース合成酵素阻害剤を投与したところ、このモデルで報告されてきたインスリン分泌細胞の死が観察されず、かえってこの細胞が再生増殖していることを見出した。同氏はこのインスリン分泌細胞の再生増殖に関わっている遺伝子を突き止め、再生遺伝子Reg (Regenerating gene) と命名した。そして、Reg遺伝子からReg蛋白質が作られ、これが細胞膜上の受容体に作用しインスリン分泌細胞が再生増殖するという一連の過程を明らかにした。また、実際に糖尿病動物にReg蛋白質を投与しインスリン分泌細胞を再生増殖させ、糖尿病動物の治療にも成功した。岡本氏はさらにヒトのインスリン分泌細胞がREG蛋白質によって再生増殖することを明らかにした。これらの研究は糖尿病患者自身のインスリン分泌細胞を甦らせるという糖尿病の再生治療の方向を示したものである。岡本氏の発見したReg遺伝子及びその関連遺伝子 (Reg遺伝子ファミリー) は神経細胞、腸管上皮細胞などの再生増殖にも関わっていることが

報告されてきた。

以上のように岡本氏は、インスリン分泌細胞の死の基本機構(岡本モデル)を解明した。この機構で他の多くの病気の細胞の死も理解できるようになった。またサイクリックADPリボースがセカンドメッセンジャーとなり小胞体からCa²⁺が放出される新しいインスリン分泌機構を見出した。そしてヒトの糖尿病でこの機構の異常が見出されてきた。さらに岡氏は、インスリン分泌細胞の再生増殖に関わるReg遺伝子を発見した。ヒトREG蛋白質でヒトインスリン分泌細胞が再生増殖することも解ってきた。このように岡本氏の実験糖尿病に関する研究は細胞の死と再生、細胞の機能発現という生命科学上普遍的で重要な問題に新しい展開をもたらしただけでなく、糖尿病をはじめ種々の疾患の治療薬開発の基礎となるなど国内外で高く評価され、岡氏は日本糖尿病学会ハーグドーン賞、武田医学賞、ヘルツ賞、紫綬褒章などを受賞している。

主要な著書・論文の目録

1. Itoh, N. and Okamoto, H.; Translational control of proinsulin synthesis by glucose. *Nature* 283, 100-102 (1980).
2. Yamamoto, H., Uchigata, Y. and Okamoto, H.; Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP-Ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* 294, 284-286 (1981).
3. Okamoto, H.; Regulation of proinsulin synthesis in pancreatic islets and

- a new aspect to insulin-dependent diabetes. *Mol. Cell. Biochem.* 37, 43-61 (1981).
4. Uchigata, Y., Yamamoto, H., Kawamura, A. and Okamoto, H.; Protection by superoxide dismutase, catalase, and poly (ADP-Ribose) synthetase inhibitors against alloxan- and streptozotocin-induced islet DNA strand breaks and against the inhibition of proinsulin synthesis. *J. Biol. Chem.* 257, 6084-6088 (1982).
 5. Itoh, N., Obata, K., Yanaihara, N. and Okamoto, H.; Human preprovasoactive intestinal polypeptide contains a novel Pfl-27-like peptide. *PHM-27. Nature* 304, 547-549 (1983).
 6. Okamoto, H. and Yamamoto, H.; DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase activation in pancreatic islets. In ADP-ribosylation, DNA repair and cancer. (Miwa, M., Hayashi, O., Shall, S., Smulson, M. and Sugimura, T., eds.), Japan Scientific Press, Tokyo, pp. 297-308 (1983).
 7. Okamoto, H.; Molecular basis of experimental diabetes: Degeneration, oncogenesis and regeneration of pancreatic B-cells of islets of Langerhans. *BioEssays* 2, 15-21 (1985).
 8. Okamoto, H., Yamamoto, H. and Yonemura, Y.; Poly (ADP-Ribose) synthetase inhibitors induce islet B-cell regeneration in partially depancreatized rats. In ADP-Ribosylation of Proteins (Althaus, F. R., Hiltz, H. and Shall, S., eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 410-416 (1985).
 9. Inoue, C., Shiga, K., Takasawa, S., Kitagawa, M., Yamamoto, H. and Okamoto, H.; Evolutionary conservation of the insulinoma gene *rig* and its possible function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 6659-6662 (1987).
 10. Terazono, K., Yamamoto, H., Takasawa, S., Shiga, K., Yonemura, Y., Tochino, Y. and Okamoto, H.; A novel gene activated in regenerating

- islets, *J. Biol. Chem.* **263**, 2111-2114 (1988).
11. Okamoto, H., Yamamoto, H., Takasawa, S., Inoue, C., Terazono, K., Shiga, K. and Kitagawa, M.; Molecular Mechanism of degeneration, oncogenesis and regeneration of pancreatic B-cells of islets of Langerhans. In *Lessons from Animal Diabetes II* (Shafir, E. and Renold, A. E., eds.), John Libbey & Company Ltd., London, pp. 149-157 (1988).
 12. Watanabe, T., Yonekura, H., Terazono, K., Yamamoto, H. and Okamoto, H.; Complete nucleotide sequence of human *rag* gene and its expression in normal and tumoral tissues. *J. Biol. Chem.* **265**, 7432-7439 (1990).
 13. Shiga, K., Yamamoto, H. and Okamoto, H.; Isolation and characterization of the human homologue of *rig* and its pseudogenes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 3594-3598 (1990).
 14. Okamoto, H.; The molecular basis of experimental diabetes. In *Molecular Biology of the Islets of Langerhans* (Okamoto, H., ed.), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 209-231 (1990).
 15. Okamoto, H.; Mechanism of destruction of insulin-secreting cells. In *Nutrient Regulation of Insulin Secretion* (Flatt, P. R., ed.), Portland Press Ltd, London, pp. 387-406 (1991).
 16. Takasawa, S., Nata, K., Yonekura, H. and Okamoto, H.; Cyclic ADP-ribose in insulin secretion from pancreatic β cells. *Science* **259**, 370-373 (1993).
 17. Islam, M. S., Larsson, O., Berggren, P.-O., Takasawa, S., Nata, K., Yonekura, H., Okamoto, H. and Gallone, A.; Cyclic ADP-ribose in β cells. *Science* **262**, 584-586 (1993).
 18. Watanabe, T., Yonemura, Y., Yonekura, H., Suzuki, Y., Miyashita, H., Sugiyama, K., Morizumi, S., Unno, M., Tanaka, O., Kondo, H., Bone, A. J., Takasawa, S. and Okamoto, H.; Pancreatic beta-cell replication and amelioration of surgical diabetes by Reg protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 3589-3592 (1994).
 19. Hua, S.-Y., Tokimasa, T., Takasawa, S., Furuya, Y., Nohmi, M., Okamoto, H. and Kubo, K.; Cyclic ADP-ribose modulates Ca^{2+} release channels for activation by physiological Ca^{2+} entry in bullfrog sympathetic neurons. *Neuron* **12**, 1073-1079 (1994).
 20. Kato, I., Takasawa, S., Akabane, A., Tanaka, O., Abe, H., Takamura, T., Suzuki, Y., Nata, K., Yonekura, H., Yoshimoto, T. and Okamoto, H.; Regulatory role of CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) in insulin secretion by glucose in pancreatic β cells. *J. Biol. Chem.* **270**, 30045-30050 (1995).
 21. Okamoto, H.; The OKAMOTO model for B-cell damage: Recent advances. In *Lessons from Animal Diabetes VI* (Shafir, E., ed.), Birkhäuser, Boston, pp. 97-111 (1996).
 22. Okamoto, H., Takasawa, S., Tohgo, A., Nata, K., Kato, I. and Noguchi, N.; Synthesis and hydrolysis of cyclic ADP-ribose by human leukocyte antigen CD38: Inhibition of hydrolysis by ATP and the physiological significance. *Methods Enzymol.* **280**, 306-318 (1997).
 23. Noguchi, N., Takasawa, S., Nata, K., Tohgo, A., Kato, I., Ikehata, F., Yonekura, H. and Okamoto, H.; Cyclic ADP-ribose binds to FK506-binding protein 12.6 to release Ca^{2+} from islet microsomes. *J. Biol. Chem.* **272**, 3133-3136 (1997).
 24. Tohgo, A., Munakata, H., Takasawa, S., Nata, K., Akiyama, T., Hayashi, N. and Okamoto, H.; Lysine 129 of CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) participates in the binding of ATP to inhibit the cyclic ADP-ribose hydrolase. *J. Biol. Chem.* **272**, 3879-3882 (1997).
 25. Okamoto, H., Takasawa, S. and Nata, K.; The CD38-cyclic ADP-ribose signalling system in insulin secretion: molecular basis and clinical implications. *Diabetologia* **40**, 1485-1491 (1997).

26. **Okamoto, H.;** New aspects to the functioning and regeneration of pancreatic β -cells: Cyclic ADP-ribose and *Reg* gene. In *Physiology and Pathophysiology of the Islets of Langerhans* (Soria, B., ed.), Plenum Press, New York, pp. 301-311 (1997).
27. Takasawa, S., Akiyama, T., Nata, K., Kuroki, M., Tohgo, A., Noguchi, N., Kobayashi, S., Kato, I., Katada, T. and **Okamoto, H.;** Cyclic ADP-ribose and inositol 1,4,5-trisphosphate as alternate second messengers for intracellular Ca^{2+} mobilization in normal and diabetic β -cells. *J. Biol. Chem.* **273**, 2497-2500 (1998).
28. Ikehata, F., Satoh, J., Nata, K., Tohgo, A., Nakazawa, T., Kato, I., Kobayashi, S., Akiyama, T., Takasawa, S., Toyota, T. and **Okamoto, H.;** Autoantibodies against CD38 (ADP-ribosyl cyclase/cyclic ADP-ribose hydrolase) that impair glucose-induced insulin secretion in non-insulin dependent diabetes patients. *J. Clin. Invest.* **102**, 395-401 (1998).
29. **Okamoto, H.;** Cyclic ADP-ribose-mediated insulin secretion and *Reg* regenerating gene. *J. Mol. Med.* **77**, 74-78 (1999).
30. Kato, I., Yamamoto, Y., Fujimura, M., Noguchi, N., Takasawa, S. and **Okamoto, H.;** CD38 disruption impairs glucose-induced increases in cyclic ADP-ribose, $[Ca^{2+}]_i$, and insulin secretion. *J. Biol. Chem.* **274**, 1869-1872 (1999).
31. **Okamoto, H.;** The *Reg* gene family and *Reg* proteins: With special attention to the regeneration of pancreatic β -cells. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* **6**, 254-262 (1999).
32. **Okamoto, H.,** Takasawa, S., Nata, K., Kato, I., Tohgo, A. and Noguchi, N.; Physiological and pathological significance of the CD38-cyclic ADP-ribose signaling system. In *Human CD38 and related molecules* (Mehta, K. and Malavasi, F., eds.), Karger, Basel, pp. 121-145 (2000).
33. Kobayashi, S., Akiyama, T., Nata, K., Abe, M., Tajima, M., Shervani, N. J., Unno, M., Matsuno, S., Sasaki, H., Takasawa, S. and **Okamoto, H.;** Identification of a receptor for *Reg* (Regenerating Gene) protein, a pancreatic β -cell regeneration factor. *J. Biol. Chem.* **275**, 10723-10726 (2000).
34. Yamamoto, Y., Kato, I., Doi, T., Yonekura, H., Ohashi, S., Takeuchi, M., Watanabe, T., Yamagishi, S., Sakurai, S., Takasawa, S., **Okamoto, H.** and Yamamoto, H.; Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J. Clin. Invest.* **108**, 261-268 (2001).
35. Fukushi, Y., Kato, I., Takasawa, S., Sasaki, T., Ong, B. H., Sato, M., Ohsaga, A., Sato, K., Shirato, K., **Okamoto, H.** and Maruyama, Y.; Identification of cyclic ADP-ribose-dependent mechanisms in pancreatic muscarinic Ca^{2+} signaling using CD38 knockout mice. *J. Biol. Chem.* **276**, 649-655 (2001).
36. Akiyama, T., Takasawa, S., Nata, N., Kobayashi, S., Abe, M., Shervani, N. J., Ikeda, T., Nakagawa, K., Unno, M., Matsuno, S. and **Okamoto, H.;** Activation of *Reg* gene, a gene for insulin-producing β -cell regeneration: Ploy(ADP-ribose) polymerase binds *Reg* promoter and regulates the transcription by autopoly (ADP-ribosylation). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 48-53 (2001).
37. Takasawa, S. and **Okamoto, H.;** The CD38-cyclic ADP-ribose signal system in pancreatic β -cells: The discovery and biological significance of the novel signal system in mammalian cells. In *Cyclic ADP-ribose and NAADP: Structures, Metabolism and Function* (Lee, H. C., ed.) Kluwer, Dordrecht, pp. 269-299 (2002).
38. **Okamoto, H.** and Takasawa, S.; Recent advances in the Okamoto model: The CD38-cyclic ADP-ribose signal system and the Reg-Reg receptor system in β -cells. *Diabetes* **51**, Suppl. 3, 462-473 (2002).