

令和 7 年 6 月 10 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2024

課題番号：19K17996

研究課題名（和文）short-form GIPの糖代謝における役割の解明と創薬への応用

研究課題名（英文）Elucidation of the role of short-form GIP in glucose metabolism and its application to drug discovery

研究代表者

竹田 安孝（TAKEDA, Yasutaka）

金沢医科大学・医学部・講師

研究者番号：90431402

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：GIP(1-30)の分泌動態や臨床的意義を解明するべく本研究を行った。75gOGTTにおけるGIP(1-30)の分泌は正常耐糖能者に比し前糖尿病、2型糖尿病症例で低下傾向を示し、そのAUCはインスリン分泌指数と関連した。膵全摘後症例の血中GIP(1-30)濃度は定量下限未満であったが定量可能な症例もいた。GIP(1-30)のC端(GIP(24-30))抗体を用いた免疫染色でヒト膵細胞にGIP(24-30)の染色性が観察され、これは非糖尿病症例に比し2型糖尿病症例で低下していた。ヒト小腸においてもGIP(24-30)の染色性が観察され、GIP(1-30)が膵・小腸に由来する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、(1)生体においてGIP(1-30)がインスリン分泌と関連すること、(2)GIP(1-30)が主に膵島由来であるほか小腸に由来したGIP(1-30)が存在すること、(3)2型糖尿病ではGIP(1-30)の分泌が低下している可能性があることを見出した。これらの知見は、糖代謝におけるGIP(1-30)の役割の一端を示すに留まらず、糖代謝異常の病態・病因を解明する上で、新たな知見となる可能性がある。本研究課題では、GIP(1-30)の分泌調節機構も検証する予定であったが、COVID-19感染症の流行や能登半島地震の影響もあり、当初の計画通りに遂行できなかった。今後改めて取り組みたい。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to clarify the secretion and clinical significance of GIP(1-30). GIP(1-30) secretion in a 75g OGTT tended to be lower in prediabetic and type 2 diabetic patients compared to subjects with normal glucose tolerance, and its AUC correlated with the insulinogenic index during OGTT. Although the blood GIP(1-30) concentration in patients after total pancreatectomy was below the lower limit of quantification, some patients were quantifiable. In immunohistochemistry using an antibody against the C-terminus of GIP(1-30)(GIP(24-30)), GIP(24-30) staining was observed in human pancreatic alpha cells, which was lower in type 2 diabetic patients compared to nondiabetic patients. GIP(24-30) staining was also observed in the human small intestine, suggesting that GIP(1-30) may originate from the pancreas and small intestine.

研究分野：代謝・内分泌

キーワード：GIP(1-30) インクレチン 糖代謝

1. 研究開始当初の背景

GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide)は 42 アミノ酸からなるペプチドホルモンで (**GIP (1-42)**)、小腸で **prohormone convertase (PC)1/3** によるプロセッシングを受け分泌される。**Fujita**らは膵α細胞に **PC2**によりプロセッシングを受け、膵島内で **paracrine**によりインスリン分泌を促進する **short-form GIP (GIP (1-30))**が存在することを報告した (文献 1)。我々は、さらにペグ化した外因性 **GIP (1-30)**が糖尿病動物モデルにおけるβ細胞死とα細胞増生を抑制し、高血糖を是正することを見出した (文献 2)。このように、**GIP (1-30)**は糖代謝において重要な役割を担っていることが想定されるが、これまで測定系はなく、分泌動態は明らかではなかった。そこで我々は、この'short-form GIP'の分泌動態を解明すべく、(株)免疫生物研究所(群馬県)と共同で、**GIP (1-30)**に極めて高い特異性を有する新規 **ELISA**系を開発した(科学研究費助成事業、**16K19527**、若手研究(B))。この **ELISA**系を用いて、健常者、2型糖尿病患者とともに糖負荷・クッキーミール負荷により **GIP (1-30)**の分泌が促進すること、さらに **DPP-4**阻害薬により **GIP (1-30)**の分泌が増加することを報告した (文献 3:申請時は論文投稿準備中)。これらの知見から、**GIP (1-30)**が、糖代謝を始めとする恒常性維持において、インクレチンとして重要な役割を担っている可能性が示唆されるが、その分泌調節機構や生理学的意義については未だ十分に明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、以下の3点を目的とした。

- 1)糖代謝異常における **GIP (1-30)**の分泌異常の有無を検証する。
- 2)**GIP (1-30)**の分泌促進因子・抑制因子を探索し、生体における **GIP (1-30)**の分泌調節機構を明らかにする。
- 3)**GIP (1-30)**および本研究で明らかとなった分泌調節因子を応用した、新規糖尿病治療薬の候補を探索する。

3. 研究の方法

(1)糖代謝異常における **GIP (1-30)**の分泌異常の有無の検証:

我々が開発した **GIP (1-30)**の **ELISA**系を用いて、前糖尿病患者、1型糖尿病患者や膵全摘後の二次性糖尿病患者における分泌動態を検証・比較し、糖代謝異常の程度や病態の差異に伴う **GIP (1-30)**の分泌動態の差異について明らかにする。さらに各種病態における **GLP-1**、**GIP**の分泌動態あるいは分泌異常の差異について比較・検証する。

(2)ヒトにおける **GIP (1-30)**の分泌調節機構の検証:

ヒト膵島およびヒト小腸培養細胞を用いて、各種アミノ酸、脂肪酸、胆汁酸や、膵・消化管ホルモン(インスリン、グルカゴン、ソマトスタチン、**GLP-1**、**GLP-2**、ガストリン、グレリン、**CCK**、**PYY**等)を培養液に添加、培養液を回収の後、**GIP (1-30)**を測定し、分泌促進因子、抑制因子を明らかにする。

(3)**GIP (1-30)**ならびにその分泌調節因子を応用した新規糖尿病治療薬の候補の探索:

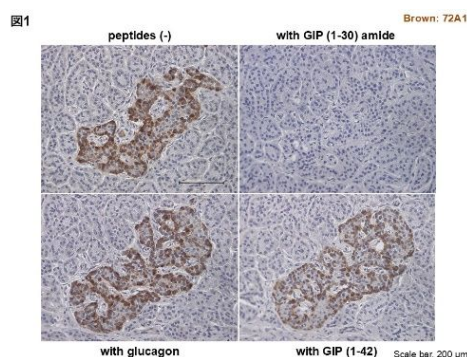
GIP (1-30)注射剤、およびアミノ酸配列を修飾した **GIP (1-30)**受容体作動薬を開発し、糖尿病動物モデルを用いてその安全性・有効性を検証する。さらに、**GIP (1-30)**の分泌促進因子の分泌および作用を増強する薬剤、化合物を探索するとともに、**GIP (1-30)**の分泌抑制因子の分泌および作用を抑制する薬剤、化合物を探索し、糖尿病動物モデルを用いて安全性・有効性を検証する。

4. 研究成果

(1)糖代謝異常における **GIP (1-30)**の分泌異常の有無の検証:

糖代謝異常の有無における **GIP (1-30)**の分泌動態の差異について比較・検証するため、正常耐糖能者、前糖尿病患者、2型糖尿病患者において経口糖負荷試験 (**OGTT**)を行い、負荷前後での血中 **GIP (1-30)**濃度を測定した。**OGTT**における **GIP (1-30)**の曲線下面積 (**AUC for GIP (1-30)**)は、正常耐糖能者に比し、前糖尿病患者、2型糖尿病患者で低下傾向を示したが、統計学的に有意ではなかった。興味深いことに、**OGTT**における負荷前後の血中 **GIP (1-30)**濃度と **AUC for GIP (1-30)**は、インスリン分泌指数である **insulinogenic index** と有意な正の相関を示した。以上から、**GIP (1-30)**は、*in vivo*においてもインスリン分泌と関連することが新たに示された。

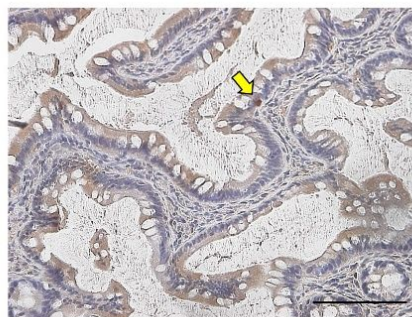
Fujitaらの既報から、**GIP (1-30)**は、膵由来と想定される。そこで **GIP (1-30)**の由来臓器を探索すべく、膵全摘後症例における食後ならびにクッキー負荷試験における血中 **GIP (1-30)**濃度を測定した。計 4 例



で食後 2 時間における血中 **GIP (1-30)**濃度を測定したところ、3 例は定量下限未満であったが、1 例で **0.287 pmol/L** と定量し得た。クッキー負荷試験も 4 例で実施した。3 例は血中 **GIP (1-30)**濃度は負荷前後ともに定量下限未満であったが、1 例では負荷前後にわたって定量し得た。

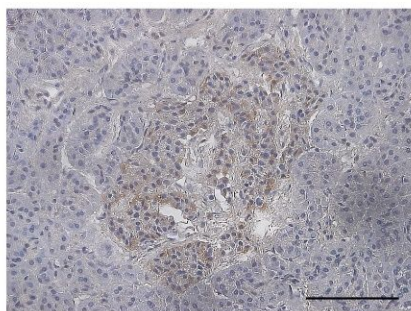
GIP (1-30)の C 端 (**GIP (24-30)**)に特異的なモノクローナル抗体 **72A1** を用いて、非糖尿病ヒト膵組織における免疫染色を実施した。膵島特異的に **72A1** の染色性が観察されたが、これは **GIP (1-30) amide** の添加により消失した。一方、**glucagon** および **GIP (1-42)**の添加による膵島における **72A1** の染色性の変化は観察されなかった (図 1)。非糖尿病ヒト小腸組織を用いた免疫染色において、小腸における **72A1** の染色性が限局的に観察された (図 2)。以上より、**GIP (1-30)**は基本的に膵由来、特に膵島に由来することが示唆された一方で、膵以外の臓器として小腸に由来する **GIP (1-30)**が存在する可能性が示唆された。

図2



Scale bar, 200 μm

図3



Scale bar, 200 μm

OGTTにおける **AUC for GIP (1-30)**が、正常耐糖能者に比し前糖尿病患者、2 型糖尿病患者で低下傾向を示した結果を踏まえ、2 型糖尿病患者の膵島における **72A1** の染色性を検証するべく、2 型糖尿病患者の膵組織を用いた免疫染色を重ねて行った。興味深いことに、2 型糖尿病患者の膵島における **72A1** の染色性は、非糖尿病症例に比し低下していた (図 3)。OGTT の **AUC for GIP (1-30)**の結果とあわせ、2 型糖尿病では **GIP (1-30)**の分泌が低下している可能性が示唆された。

本研究で当初予定していた、上記(2)ヒトにおける **GIP (1-30)**の分泌調節機構の検証および(3)**GIP (1-30)**ならびにその分泌調節因子を応用した新規糖尿病治療薬の候補の探索は、**COVID-19** 感染症の流行や能登半島地震の影響もあり、実施できなかった。

以上、ヒトにおける **short-form GIP** の分泌動態および臨床的意義の一端を明らかにした。本研究において、生体においても **GIP (1-30)**がインスリン分泌と関連すること、**GIP (1-30)**が膵由来、特に膵島由来である可能性が示唆されるとともに、膵以外の臓器として小腸に由来した **GIP (1-30)**が存在する可能性があること、2 型糖尿病では **GIP (1-30)**の分泌が低下している可能性があることを新たに示すことが出来た。一方で、ヒト膵島やヒト小腸培養細胞を用いた *in vitro* での **GIP (1-30)**の分泌調節因子の同定に関する検証や、**GIP (1-30)**ならびにその分泌調節因子を応用した新規糖尿病治療薬の候補に関する探索は、上記の通り **COVID-19** 感染症の流行等により、研究実施に際しての準備ならびに研究時間の確保ができず実施できなかった。今後の最優先課題として、改めて取り組みたい。

<引用文献>

- Fujita Y et al. *Gastroenterology* 138: 1966-1975, 2010.
- Yanagimachi T et al. *Diabetologia* 59: 533-541, 2016.
- Takeda Y et al. *Physiol Rep* 8: e14469, 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasutaka Takeda, Yukihiro Fujita, Tsuyoshi Yanagimachi, Nobuhiro Maruyama, Ryoichi Bessho, Hidemitsu Sakagami, Jun Honjo, Hiroki Yokoyama, Masakazu Haneda	4. 巻 8
2. 論文標題 Establishment of novel specific assay for short-form glucose-dependent insulinotropic polypeptide and evaluation of its secretion in nondiabetic subjects	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiological reports	6. 最初と最後の頁 e14469
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14814/phy2.14469	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Abe Tomoe, Takeda Yasutaka, Sakuma Ichiro, Okada Mizuho, Kurigaki Ayaka, Bessho Ryoichi, Sato Mao, Kitsunai Hiroya, Takiyama Yumi, Sakurai Masaru	4. 巻 22
2. 論文標題 Efficacy of Alogliptin/Metformin Fixed-Dose Combination Tablets and Vildagliptin/Metformin Fixed-Dose Combination Tablets on Glycemic Control in Real-World Clinical Practice for the Patients with Type 2 Diabetes: A Multicenter, Open-Label, Randomized, Parallel Group, Comparative Trial	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Metabolic Syndrome and Related Disorders	6. 最初と最後の頁 651 ~ 660
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/met.2024.0127	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹田安孝、藤田征弘、柳町剛司、丸山順裕、横山宏樹、羽田勝計
2. 発表標題 ヒトにおける short-form GIPの分泌動態および臨床的意義の検討
3. 学会等名 第66回日本糖尿病学会年次学術集会 若手研究助成金成果報告会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹田安孝、藤田征弘、柳町剛司、丸山順裕、別所瞭一、坂上英充、羽田勝計
2. 発表標題 ヒトにおける 'short-form' GIPの分泌動態の検証と臨床的意義の解明
3. 学会等名 第35回日本糖尿病合併症学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹田安孝、藤田征弘、柳町剛司、丸山順裕、別所瞭一、坂上英充、羽田勝計、太田嗣人
2. 発表標題 ヒトにおけるshort-form GIPの分泌動態と臨床的意義の検証
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤田征弘、柳町剛司、竹田安孝、羽田勝計
2. 発表標題 Glucagon/Incretin Revolution New features of GIP and glucagon related products
3. 学会等名 第67回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 藤田征弘、柳町剛司、竹田安孝	4. 発行年 2024年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 131
3. 書名 実験医学 グルカゴン・GLP-1・GIPの創薬革命	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------