

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08551

研究課題名(和文) 膵細胞からのインスリン分泌を制御する新規分子機構の同定と生理的意義の解明

研究課題名(英文) Identification of novel molecular mechanisms regulating insulin secretion from pancreatic beta cells and their physiological significance

研究代表者

駒津 光久 (Komatsu, Mitsuhsa)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：90221978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ブドウ糖による生理的に重要なインスリン分泌機構として代謝性増幅経路を有している。そのメカニズムには、ブドウ糖代謝と脂質メッセンジャーが関与している。そして25 kDの膵島蛋白がこの経路を担う分子基盤の一つであることを見出していた。本研究課題の成果として、その膵島蛋白がPGRMC1 (progesterone receptor membrane associated component 1)であることを同定した。そして、ラット膵島から抽出したPGRMC1の一か所がin vitroでパルミチン化されることを証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は30年間にわたり我々が研究してきた代謝性増幅経路の分子基盤を確立し、その生理的役割を証明する集大成の位置を占める。ブドウ糖による代謝性増幅経路を担う新規分子としてPGRMC1を同定できたことは、インスリン分泌機構における代謝性増幅経路の分子基盤に新たな道筋をつける、極めて学術的独自性に富む研究成果である。代謝性増幅経路の分子基盤の解明はインスリン分泌機構の解明とともにこの分野のさらなる研究の発展につながることになるだろう。

研究成果の概要(英文)：The metabolic amplification pathway is a physiologically important mechanism of insulin secretion by glucose. The mechanism involves glucose metabolism and lipid messengers. We have found that the 25kD islet protein is one of the molecular bases for this pathway. As a result of this research project, the islet protein was identified as PGRMC1 (progesterone receptor membrane associated component 1). We also demonstrated that one location of PGRMC1 extracted from rat islets is palmitoylated in vitro.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：インスリン分泌 ブドウ糖

### 1. 研究開始当初の背景

ブドウ糖やインクレチンなどによりインスリン分泌は刺激されるが、そのメカニズムは一部しか解明されていない。ブドウ糖の濃度上昇は「代謝 ATP KATP チャンネル閉鎖 電位依存性  $Ca^{2+}$ チャンネル解放 細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度上昇」の経路(惹起経路)でインスリン分泌を刺激する。1992年、我々はこの経路とは別にブドウ糖がインスリン分泌を強力に増強する作用(代謝性増幅経路)を示すことを世界に先駆け報告した(Sato Y, Aizawa T, Komatsu M et al. *Diabetes* 41:438,1992)。さらに、この経路が  $Ca^{2+}$ 非依存性であることや (Komatsu M et al. *PNAS* 92:10728, 1995)、そのメカニズムとして GTP の関与(Komatsu M et al. *Endocrinology* 139: 1172, 1998)、脂肪酸の関与(Komatsu M et al. *Diabetes* 47:352, 1998, Komatsu M et al. *Diabetes* 48:1543, 1999)、蛋白のアシル化の関与(Yamada S, Komatsu M et al. *Endocrinology* 144:5232, 2003)などを明らかにしてきた。最近では甲状腺ホルモン細胞質結合蛋白( $\mu$ -crystallin)(Ohkubo Y, ...Komatsu M. *BBRC* 508; 914, 2019)やエストロゲン受容体(Sekido T ...Komatsu M. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 55:226, 2019)がインスリン分泌機構に間接的に関与している可能性を明らかにし報告した。本研究はインスリン分泌機構を担う新規分子基盤を明らかにすることが目的であり、インスリン分泌機構解明という学術的問いに対する新しいアプローチといえる。

### 2. 研究の目的

本研究の目的はブドウ糖による代謝性増幅経路を担う分子基盤の解明であり、我々が30年にわたり、その存在、特性を報告してきた経路に関する研究であり、極めて学術的独自性に富む研究課題である。代謝性増幅経路の存在は世界に認知されているが、その分子基盤に迫る研究成果は現在まで他の研究者から発表されておらず、極めて高い創造性のある研究である。本研究ではラット膵 細胞内で、 $Ca^{2+}$ 非依存性にインスリン分泌を増大させるとき(代謝性増幅経路)に関与している蛋白質を同定する。本研究の特徴は、 $Ca^{2+}$ 非依存下でブドウ糖が強力にインスリン分泌を増大させる実験モデルを見出しており、その条件を解析の基本とすることにある。ブドウ糖によるインスリン分泌機構の新たなメカニズムの分子基盤をプロテオーム解析により網羅的にアプローチし、新たな分子基盤の候補蛋白を探索する。

### 3. 研究の方法

インスリン分泌実験、基本的な生化学実験手技、分子生物学的手技はすでに当教室では確立されている。プロテオーム解析は Waters nano ACQUITY UPLC, Xevo QTOF が当キャンパス内の総合研究センターに設置されており、技術的な援助も確保されている。

プロテオーム解析:ブドウ糖の代謝シグナルは $Ca^{2+}$ 非存在下では、非特異的な変化が極めて少なくなり、我々が予備的に見出した25kDaタンパクのアシル化蛋白質(Yamada S, Komatsu M

et al. *Endocrinology* 144:5232, 2003)を始め、いくつかの未知の候補蛋白質を具体的に捉えられる可能性が高い。

アシル化蛋白質の同定: Acyl-biotinyl exchange (ABE)法を用いる

インスリン分泌実験: 標的代謝産物や蛋白質機能をダウンまたはアップさせてインスリン分泌を詳細に行い、生理的に関与しているかの確認を行う。

#### 4. 研究成果

ラット膵島を用いてプロテオーム解析によりブドウ糖により  $\text{Ca}^{2+}$ 非依存性に变化するスポットを同定し、それが過去に報告した25KD タンパク (Yamada S, Komatsu M et al. *Endocrinology* 144:5232, 2003)であることを確認した。当該スポットタンパクを質量分析(LC/MS/MS)にかけPGRMC1 (progesterone receptor membrane associated component 1)であることを突き止めた。さらに PGRMC1 分子内に一か所、化学的にパルミチン化される個所が存在し、そのパルミチン化が生理的インスリン刺激物質であるブドウ糖で变化することを確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	大久保 洋輔  (Okubo Yosuke)  (70793925)	信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・助教    (13601)	

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