

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791029
 研究課題名(和文) 脂肪毒性および耐糖能異常での新規膜型脂肪酸受容体の膵β細胞保護作用と転写制御機構
 研究課題名(英文) Study of protective effects and transcriptional regulation by a novel fatty acid receptor in pancreatic beta cells: its implication in lipotoxicity and glucose intolerance
 研究代表者
 富田 努 (TOMITA TSUTOMU)
 京都大学・医学研究科・非常勤講師
 研究者番号：50402897

研究成果の概要（和文）：

GPR40 は膵β細胞に高発現しインスリン分泌調節に関与する。しかし、レプチンシグナル低下での GPR40 の意義は不明であった。申請者らは遺伝性肥満レプチン欠損 *Lep^{mkylmkyl}* ラットを解析し、週齢依存の肥満の増悪することを示した。肥満の増悪に伴い、著明な中性脂肪血症が生じ、耐糖能も悪化した。また、*Lep^{mkylmkyl}* ラットでは 52 週齢以降で体重減少、60 週齢以降で致死を生じ、その原因の一端には著明な脂肪肝および肝機能障害の関与が示唆された。*Lep^{mkylmkyl}* ラットの膵臓にて膵β細胞領域は対照の約 3 倍以上に著明に増大しており、基礎インスリン分泌の上昇との関連が示唆された。一方、*Lep^{mkylmkyl}* ラットではインスリン初期分泌低下が認められた。グルコース応答性インスリン分泌に関与する GPR40 の遺伝子発現が有意に低下しており、インスリン初期分泌低下との関連が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To explore the significance of GPR40 in leptin deficiency, GPR40 mRNA expression was assessed in pancreatic islets of genetically obese leptin-deficient rats (*Lep^{mkylmkyl}*), which were established by our laboratory. Body weight of *Lep^{mkylmkyl}* was increased in an age-dependent manner. Hypertriglyceridemia and glucose intolerance were worsened in parallel with the progression of obesity. After the age of ~52 weeks, body weight of *Lep^{mkylmkyl}* was decreased and they died around the age of 60 weeks. Liver lipid concentration and blood transaminase were markedly increased in *Lep^{mkylmkyl}*, suggesting involvement of liver failure in the death of *Lep^{mkylmkyl}*. Fasting insulin levels were markedly increased in *Lep^{mkylmkyl}*, and beta cell area was markedly increased. In contrast, early insulin response after glucose load was markedly decreased. GPR40 mRNA levels were decreased in pancreatic islets of *Lep^{mkylmkyl}*, suggesting possible involvement of GPR40 in insulin secretion in leptin deficient obesity-associated glucose intolerance.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：GPR40、脂肪毒性、糖尿病、耐糖能異常、レプチン

1. 研究開始当初の背景

脂肪酸は栄養素であるのみならず、インスリン分泌調節に深く関与する。脂肪酸の急性投与は膵β細胞でのグルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) を増強する。一方、脂肪酸の慢性投与で膵β細胞の機能異常が生じ、脂肪毒性(adipotoxicity)と呼ばれる。また、耐糖能悪化の進展への高遊離脂肪酸血症の関連が疫学的にも示唆されている。メタボリックシンドロームにおける脂質代謝異常や脂肪毒性の病態生理的意義が強く示唆されるが、その分子基盤には不明な点が多い。

GPR40 はマウス・ラットの膵β細胞で高発現が報告されインスリン分泌増強への関与が報告されてきた。GPR40 はクラス A の G 蛋白共役型で経口可能な作動薬が開発しやすいという背景が有り、またその発現分布や機能から低血糖を生じにくいインスリン分泌促進薬の標的分子として注目されてきた。申請者らは、いち早くヒトにて GPR40 が膵β細胞に高発現してインスリン分泌調節に関与する可能性を示してきた (T Tomita *Diabetologia*, 2006; *BBRC* 2005)。また、申請者らは、レプチン受容体欠損による遺伝性肥満モデル、コレツキーラットの膵島にて GPR40 遺伝子発現が著明に低下しており、カロリー制限にて非肥満対照に匹敵するレベルにまで改善することを示してきた。コレツキーラットはレプチンシグナル欠損動物であり、その膵島では脂質蓄積が認められた。しかし、本動物はレプチン受容体変異のため、レプチン投与による GPR40 遺伝子発現制御

を確認することができない。

2. 研究の目的

そこで、本研究では脂肪毒性および耐糖能異常での新規膜型脂肪酸受容体 GPR40 の膵β細胞保護作用と転写制御機構の解明を目的として、以下の研究を行った。

3. 研究の方法

申請者らが開発した遺伝性肥満レプチン欠損 *Lep^{mkyl/mkyl}* ラットは、コレツキーラットと同様にレプチンシグナルを欠きながら、リガンドの欠損を原因とするためレプチン感受性が保たれている。本研究では、*Lep^{mkyl/mkyl}* ラットにおける糖脂質代謝および組織脂質蓄積を評価し、その膵島における GPR40 遺伝子発現制御を評価した。また、本モデルにてレプチン投与を行い、GPR40 遺伝子発現制御を評価した。

4. 研究成果

申請者らは遺伝性レプチン欠損 *Lep^{mkyl/mkyl}* ラットを解析し、週齢依存に肥満が増悪することを示した。肥満の増悪に伴い耐糖能は悪化し、20 週齢雄性での 2mg/g ipGTT ではふ化後 2 時間値が約 250mg/dl で対照の 2 倍以上であった。また、血中脂質濃度も肥満の進展に伴い悪化を認め、空腹時の血中中性脂肪濃度は約 1400mg/dl と著明な高値を示した (対照は約 100mg/dl)。 *Lep^{mkyl/mkyl}* ラットでは 52 週齢以降で体重減少、60 週齢以降で致死を生じ、その原因の一端には著明な脂肪肝および肝機能障害の関与が示唆された。 *Lep^{mkyl/mkyl}* ラットの膵臓にて膵β細胞領域は対照の約 3 倍以上に著明に増大しており、基礎インスリン

分泌の上昇との関連が示唆された。一方、*Lep^{mkkyo/mkyo}* ラットの膵島ではグルコース応答性インスリン分泌に關与する GPR40 などの遺伝子発現が有意に低下しており、ipGTT で確認されたインスリン初期分泌低下との関連が示唆された。さらに、本来膵島辺縁 (mantle) に存在すべき膵 α 細胞が中心部 (core) にも見られ、膵島内細胞構築の異常が膵島機能低下と關連する可能性が示された。また、本モデルはレプチン感受性が有り、浸透圧ポンプによる 2 週間のレプチン投与にて、糖脂質代謝の改善を認め、レプチンに対する感受性が証明された。ラットではマウスと比べサイズが大きく膵島などの臓器解析に向いており、血清学的な精査でも優位性がある。今後、本モデル動物を用いて、脂肪毒性における GPR40 の発現制御とその治療的意義の解明を行っていく。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. T. Tomita (12 名中 3 番目), GPR119 expression in normal human tissues and islet cell tumors: evidence for its isletgastrointestinal distribution, expression in pancreatic beta and alpha cells, and involvement in islet function. *Metabolism*, 62(1):70-8, 2012, 査読有, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.06>.

[学会発表] (計 9 件)

1. T. Tomita, 他. Clinical Implications of G Protein-Coupled Lipid Receptors, GPR40 and GPR119, 9thInternational Diabetes Federation Western Pacific Region Congress, 4thScientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, 2012 年 11 月 25 日, 京都市
2. 富田努, 他. G 蛋白共役型一中・長鎖脂肪酸受容体 GPR40 の遺伝性肥満モデルの膵島での発現調節, 第 33 回日本肥満学会, 2012 年 10 月 12 日, 京都市
3. 富田努, 他. 新規の G 蛋白共役型-脂質受容体群 GPR40、GP119 の臨床的意義, 第 55 回日本糖尿病学会学術集会, 2012 年 05 月 17 日, 横浜市
4. 富田努, 他. G 蛋白共役型-脂質受容体 GPR119 の臨床的意義: ヒト膵島およびインスリノーマにおける遺伝子発現と膵島機能との連関, 第 85 回日本内分泌学会学術総会, 2012 年 04 月 21 日, 名古屋市
5. 富田努, 他. 新規のインスリン分泌促進因子 GPR40 の遺伝性肥満モデルの発現調節と機能的意義, 第 85 回日本内分泌学会学術総会, 2012 年 04 月 19 日, 名古屋市
6. 富田努, 他. 新規のインスリン分泌調節

因子 GPR40 の遺伝性肥満モデルでの発現調節と機能的意義, 第 109 回日本内科学会, 2012 年 04 月 13 日, 京都市

研究者番号 : 50402897

(2) 研究分担者
該当なし

7. 富田努, 他. G 蛋白共役型-脂肪酸受容体 GPR40 の遺伝性肥満モデルの膵島での発現調節, 第 32 回日本肥満学会学術集会, 2011 年 9 月 24 日, 淡路市

研究者番号 : なし

(3) 連携研究者
該当なし

研究者番号 : なし

8. 富田努, 他. 膵 β 細胞に高発現し、中・長鎖脂肪酸をリガンドする G 蛋白共役型受容体 GPR40 の遺伝性肥満モデルの膵島での発現調節, 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会, 2011 年 5 月 21 日, 札幌市

9. 富田努, 他. 新規のインスリン分泌調節因子 GPR40 の遺伝子肥満モデルでの発現調節, 第 84 回日本内分泌学会学術総会, 2011 年 4 月 21 日, 淡路市

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田 努 (TOMITA TSUTOMU)

京都大学・医学研究科・非常勤講師