

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293210

研究課題名(和文)単離小腸K細胞を用いたGIP合成・分泌機構の解明

研究課題名(英文)The mechanisms of GIP secretion from enteroendocrine K cells

研究代表者

稲垣 暢也 (INAGAKI, NOBUYA)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30241954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：GIPは腸管内分泌K細胞から分泌され、インスリン分泌を促進するインクレチンである。脂質の摂取はGIP分泌を亢進させるが、その分泌機序は不明であった。我々は、蛍光蛋白GFPによりK細胞を可視化できるGIP-GFP knock-inマウスを作製しK細胞内に特異的に発現する遺伝子の同定に成功した。同マウスK細胞を用いたマイクロアレイ解析から、我々は脂肪酸結合タンパク5 (FABP5) と脂肪酸受容体GPR120がK細胞に特異的に発現し、脂質摂取時のGIP分泌に関与することを明らかにした。また高脂肪食肥満状態で転写因子Pdx1とRfx6がK細胞内で増加し、GIPの遺伝子発現を高めることも明らかにした。

研究成果の概要(英文)：GIP is an incretin secreted from enteroendocrine K cells in response to nutrient ingestion and potentiates glucose-dependent insulin secretion from pancreatic beta-cells. Fat intake strongly stimulates GIP secretion. However, mechanisms of fat-induced GIP secretion had remained unclear, mainly because of inability to isolate K cells from intestinal epithelium. We generated GIP-green fluorescent protein knock-in (GIP-GFP) mice, in which K cells are labeled by enhanced GFP. Microarray analysis of K cells isolated from GIP-GFP mice enabled us to identify genes that are highly expressed in K cells. Among the genes, we clarified that fatty acid-binding protein 5 (FABP5) and free fatty acid receptor GPR120 play critical roles in GIP secretion in response to a single administration of fat. Furthermore, we demonstrated that transcription factors Rfx6 and Pdx1 are involved in production of GIP under High-fat diet feeding by increasing GIP gene expression in K cells.

研究分野：代謝学

キーワード：インクレチン GIP K細胞 インスリン分泌 肥満

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

gastric inhibitory polypeptide (GIP)は、摂食時の糖や脂質など栄養素の刺激によって腸管内分泌K細胞から分泌されるインクレチンである。食事摂取によって分泌されたGIPは、血行性に膵β細胞に存在するGIP受容体に作用してグルコース存在下にインスリン分泌を促進する。またGIP受容体は脂肪組織に存在し、糖や脂肪などのエネルギー蓄積に作用する。我々はGIPが同じインクレチンであるglucagon-like peptide-1 (GLP-1)に比較して摂取する栄養素やエネルギー量によってその分泌量が大きく変化し、特に脂肪摂取はGIP分泌を強く誘導することを明らかにした (Yamane S, et al. *J Diabetes Investig* 2012.)。近年、脂肪酸やオレオイルエタノールアミド(OEA)、胆汁酸をリガンドとするGタンパク質共役受容体(GPCR)や脂肪酸のトランスポーターfatty acid transporter 4(FATP4)が同定されGLP-1分泌への関与が報告されており、脂質摂取時のGLP-1分泌機序が明らかになりつつある。しかし、栄養素の刺激に対してGIPを分泌する腸管内分泌腫瘍株が存在しないことに加えて、生体内でK細胞と他の腸管上皮細胞を識別することが不可能なため、K細胞におけるこれらの受容体の発現の有無や脂質摂取時に生じるK細胞からのGIP分泌過分泌の機序については不明な点が多い。

2. 研究の目的

green fluorescent protein (GFP)によるK細胞の可視化および回収を目的に作製したGIP-GFP knock-in (GIP-GFP)マウスを用いてK細胞の特性とK細胞内に特異的に発現する遺伝子を評価した。

3. 研究の方法

1) K細胞の局在と特性に関する検討

GIP-GFPヘテロマウス(GIP^{gfp/+})の腸管(胃、上部小腸、下部小腸、大腸)におけるK細胞(GFP陽性細胞)の局在と細胞数を解析するため、抗GFP抗体を用いた免疫組織染色とフローサイトメーターを用いた単離腸管細胞内のgreen fluorescence強度の評価を行った。また各腸管部位から単離回収したK細胞または非K細胞(GFP陰性細胞)を用いて細胞内のGIP mRNA発現量をRT-PCR法でK細胞内GIP含有量をELISAキットで比較検討した。腸管灌流法を用いて上部小腸および下部小腸へのラード負荷後10分後の門脈内GIP血中濃度を測定した。

2) K細胞における脂肪酸受容体の発現とGIP分泌への関与の検討

脂肪酸やOEA、胆汁酸などをリガンドとするGPCR(GPR120, GPR40, GPR41, GPR43, GPR119, TGR5) mRNA発現量を腸管部位別に回収したK細胞、非K細胞を用いて評価した。特に本研究では長鎖脂肪酸受容体GPR120に注目し、GPR120欠損マウス(GPR120^{-/-})やGPR120 partial agonist (grifolic acid methyl ether)を用いて経口ブドウ糖負荷(OGTT)や経口ラード負荷(OLTT)時の総GIP血中濃度および血糖値、インスリン値を評価した。また腸管灌流法を用いて上部小腸と下部小腸の管腔内へのラード投与後の門脈内GIP濃度を測定した。

3) FABP5のGIP分泌への関与の検討

FABP5のGIP分泌への関与を検討するため、FABP5欠損マウス(FABP5^{-/-})を用いて糖(OGTT)やラードオイル(OLTT)経口負荷後のGIP血中濃度を評価した。また

FABP5^{-/-}及びGIP分泌が完全欠損したGIP-GFPホモマウス(GIP^{gfp/gfp})を用いて高脂肪食負荷下の体重の推移とCT解析による脂肪量を評価した。

4) 肥満状態における慢性的なGIP分泌亢進の機序解明
マウス腸管腫瘍株STC-1を用いてRfx6 siRNAによるRfx6ノックダウンやexpression plasmidによるRfx6過剰発現下のGIP mRNA発現量、細胞内GIP含有量、GIP分泌量を評価した。またGIPプロモーターへのRfx6の結合やGIPプロモーター活性を評価するため、one-hybrid assayとluciferase reporter assayを行った。in vivoでのRfx6の意義を検討するため、GIP-GFPヘテロマウス(GIP^{gfp/+})に高脂肪食負荷と通常食負荷を行い、負荷後の腸管内GIP発現やGIP含有量、K細胞数、K細胞内遺伝子発現を比較した。

4. 研究成果

1) K細胞の局在と特性に関する検討

GIP-GFPヘテロマウスを用いてK細胞(GFP陽性細胞)の局在と発現部位ごとに発現するK細胞の特性を検討した。フローサイトメトリ解析からK細胞は、上部小腸と下部小腸のみで発現し、胃や大腸では認めなかった。抗GFP抗体を用いた免疫組織染色評価では、K細胞数は、下部小腸より上部小腸で有意に高かった。フローサイトメトリ解析から上部小腸と下部小腸のK細胞数は、それぞれ腸管上皮細胞全体の0.052%と0.028%と上部小腸で有意に高かった。フローサイトメーターを用いて上部小腸および下部小腸のK細胞と非K細胞(GFP陰性細胞)を回収し、K細胞内GIP mRNA発現とGIP含有量を評価した。GIP mRNA量とGIP含有量は、K細胞でのみで認め、非K細胞では認めなかった。またGIP mRNA量とGIP含有量は下部小腸K細胞に比較して上部小腸K細胞で有意に高かった。K細胞数とK細胞内GIP含有量が高い上部小腸と低い下部小腸の腸管にラード灌流後の門脈内GIP血中濃度を測定したところ、上部小腸へのラード灌流時のGIP濃度が下部小腸に比較して高かった。以上から栄養素刺激後のGIP分泌に細胞数やGIP含有量に高い上部小腸K細胞が重要であることが明らかとなった。

2) K細胞内の脂肪酸受容体発現とGIP分泌への関与の検討

上部小腸と下部小腸内K細胞と非K細胞での脂肪酸やOEA、胆汁酸などをリガンドとするGPCR mRNA発現を評価したところ、長鎖脂肪酸受容体GPR120のみが上部小腸K細胞に特異的に高発現し、一方で長鎖脂肪酸受容体GPR40と短鎖脂肪酸受容体GPR43が下部小腸K細胞で高発現していた。またGPR41、GPR119、TGR5発現は下部小腸K細胞で高い傾向にあるが、有意な差は認めなかった。GPR120が細胞数およびGIP含有の高い上部小腸K細胞で高発現していることが明らかになったことから、K細胞におけるGPR120の役割を明らかにするために野生型マウス(WT)とGPR120^{-/-}に経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)と経口ラード負荷試験(OLTT)を行い、GIP分泌量を比較検討した。OGTT時のGIP血中濃度はWTとGPR120^{-/-}間に有意な差を認めなかったが、OLTT時のGIP血中濃度はWTに比較してGPR120^{-/-}で有意に低下した。OGTT時の血糖値およびインスリン値は両群間で有意な差を認めなかったが、OLTT時のGPR120^{-/-}の血糖値は、WTに比較して有意に上昇した。またGPR120^{-/-}のインス

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

リン値は WT に比較して負荷 15 分値で低下したが、有意差を認めなかった。薬物的な GPR120 阻害が GIP 分泌に及ぼす影響を検討するため、WT マウスに対して GPR120 partial agonist である grifolic acid methyl ether を経口で前投与し OGTT と OLTT を行った。OGTT 時の GIP 血中濃度は両群間に有意な差を認めなかった。一方 grifolic acid methyl ether 投与群は、コントロール群と比較して有意に OLTT 時の GIP 血中濃度の低下を認めた。OGTT と OLTT 負荷時のインスリン値と血糖値は、両群で有意な差を認めなかった。以上から GPR120 シグナルは、脂肪摂取後の K 細胞からの GIP 分泌に深く関与することが示された。

3) 脂肪酸結合蛋白 FABP5 の GIP 分泌への関与

単離 K 細胞と非 K 細胞を用いたマイクロアレイ解析から、我々は脂肪酸結合蛋白 fatty acid binding protein 5 (FABP5) が K 細胞で特異的に高発現することを見出した。定量的 PCR 法で小腸 K 細胞と非 K 細胞を用いて FABP5 の発現量を比較すると、FABP5 mRNA 発現は上部小腸 K 細胞で有意に高かった。WT と FABP5^{-/-}に OGTT と OLTT を行い、GIP 分泌量を比較検討した。OGTT 時の GIP 血中濃度は両群間に有意な差を認めなかったが、OLTT 時の GIP 血中濃度は WT に比較して FABP5^{-/-}で有意に低下した。これまでに FABP5^{-/-}は WT に比較して高脂肪食負荷時の体重や肥満が抑制されることが報告されている (Maeda K, et al. *Diabetes* 52,2003.)。そこで FABP5 欠損によるこの肥満抑制が GIP 分泌低下によるものかを検討するため、FABP5 と GIP 分泌が完全欠損する GIP-GFP ホモマウス (GIP^{gfp/gfp}) とのダブル欠損マウスを作製した。高脂肪食負荷状態では既報と同様に FABP5 欠損によって有意な体重の低下を認めた。そして GIP 分泌欠損下 (GIP^{gfp/gfp}) で FABP5 を欠損させる (FABP5^{-/-}) と、体重抑制効果が消失した。また高脂肪食負荷後に CT を施行して脂肪量の評価を行ったところ、FABP5^{-/-}は WT と比較して脂肪量の低下を認めた。しかし、GIP 分泌欠損下では、FABP5^{-/-}と WT 間の脂肪量に有意な差を認めなかった。以上から K 細胞からの GIP 分泌低下が FABP5 欠損による高脂肪食負荷下の体重減少に関与していることが明らかとなった。

4) 肥満状態における慢性的な GIP 分泌亢進の機序解明

これまで、腸管内の K 細胞の発生において pancreatic and duodenal homeobox 1 (Pdx1) の関与が知られている。単離 K 細胞と非 K 細胞を用いたマイクロアレイ解析から、我々は K 細胞に特異的に発現する転写因子 regulatory factor X 6 (Rfx6) を同定した。免疫組織学的評価では GIP-GFP ヘテロマウス上部小腸において Rfx6 陽性細胞が K 細胞に一致することが確認された。Rfx6 の K 細胞での機能的な意義を検討するため、マウス腸管腫瘍株 STC-1 を用いて解析を行った。Rfx6-knockdown STC-1 細胞では、コントロールと比較して GIP mRNA 発現、細胞内 GIP 含有量及び GIP 分泌の有意な低下を認めた。Rfx6 の GIP 遺伝子発現に対する作用を検討するため Rfx6 と GIP プロモーター遺伝子を用いた one-hybrid assay を行い、GIP プロモーター上流 5216 ~ 6215 bp に Rfx6 の結合を認めた。また、GIP プロモーター遺伝子を用いた luciferase reporter assay では、one-hybrid assay で確認した Rfx6 結合部位を欠損すると luciferase の活性低下を認めたことから、同部位が GIP 遺伝子活性に重要な部位であることが判明した。また、expression plasmid を用いた Rfx6 強発現下では GIP mRNA 発現量の増加を認めた。以上から Rfx6

が GIP 遺伝子の発現調整に関与していることが示された。以前に我々は日本人健常者において OGTT 時の GIP 分泌量は、BMI と正の相関を示すことを明らかにした (Harada N, et al. *J Diabetes Investig* 2011.)。また ob/ob マウスはコントロールマウスと比較して GIP 血中濃度が高く、小腸内の GIP 含有量が増加していることが報告されている (Bailey CJ, et al. *Acta Endocrinol* 1986)。以上の結果から肥満状態では GIP 分泌亢進が認められ、その原因として小腸内の GIP 含有量の増加が想定される。そこで GIP-GFP ヘテロマウスに高脂肪食負荷を行い、肥満状態における K 細胞内の遺伝子発現を評価した。正常な GIP 遺伝子を 1 つしか持たない GIP-GFP ヘテロマウスにおいても、通常食負荷と比較して高脂肪食負荷によって有意な体重増加を認め、食事負荷終了後の OGTT 時に高脂肪食肥満状態で GIP 分泌の増加を認めた。高脂肪食負荷 GIP-GFP ヘテロマウスでは、通常食負荷 GIP-GFP ヘテロマウスと比較して上部小腸内の K 細胞数に差を認めないが、小腸の GIP 含有量の有意な増加を認めた。さらに、高脂肪食負荷 GIP-GFP ヘテロマウス小腸 K 細胞の GIP mRNA および Rfx6 mRNA、Pdx1 mRNA 発現量は、通常食負荷 GIP-GFP ヘテロマウス小腸 K 細胞と比較して有意に増加していた。よって K 細胞に高発現する転写因子 Rfx6 は、高脂肪食負荷肥満マウスにおける腸管内 GIP 含有量を増加させて高脂肪食肥満下の GIP 分泌亢進に関与することが示唆された。

以上の結果から我々は、K 細胞の可視化および回収を目的に作製した GIP-GFP knock-in (GIP-GFP) マウスを用いて K 細胞の特性を詳細に解析することが可能となった。そして K 細胞内に特異的に発現する遺伝子を同定することに成功し、脂肪摂取時の GIP 分泌亢進の機序を明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 45 件)

1. Tanaka, T., Nagashima, K., Inagaki, N., Kioka, H., Takashima, S., Fukuoka, H., Noji, H., Kakizuka, A., and Imamura, H. Glucose-stimulated single pancreatic islets sustain increased cytosolic ATP levels during initial Ca²⁺ influx and subsequent Ca²⁺ oscillations. *J. Biol. Chem.* 289: 2205-2216, 2014.
2. Inagaki, N., Onouchi, H., Sano, H., Funao, N., Kuroda, S., and Kaku, K. SYR-472, a novel once-weekly dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor, in type 2 diabetes mellitus: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Diabetes Endocrinology* 2: 125-132, 2014
3. Sato, Y., Fujimoto, S., Mukai, E., Sato, H., Tahara, Y., Ogura, K., Yamano, G., Ogura, M., Nagashima, K., and Inagaki, N. Palmitate induces reactive oxygen species production and β -cell dysfunction by activating nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase oxydase through Src signaling. *J. Diabetes Investig.* 5: 19-26, 2014.
4. Okawa, T., Kamiya, H., Himeno, T., Seino, Y., Tsunekawa, S., Hayashi, Y., Harada, N., Yamada, Y., Inagaki, N., Seino, Y., Oiso, Y., and Nakamura, J. Sensory and motor physiological functions are impaired in gastric inhibitory polypeptide receptor-deficient mice. *J. Diabetes Investig.* 5: 31-37, 2014.
5. Béguin, P., Nagashima, K., Mahalakshmi, R. N., Vigot, R.,

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

- Matsunaga, A., Miki, T., Ng, M. Y., Ng, Y. J. A., Lim, C. H., Tay, H. S., Hwang, L.-A., Firsov, D., Tang, B. L., Inagaki, N., Mori, Y., Seino, S., Launey, T., and Hunziker, W. BARP suppress voltage-gated calcium channel activity and Ca²⁺-evoked exocytosis. *J. Cell. Biol.* 205: 233-249, 2014.
6. Shide, K., Takada, Y., Nakashima, A., Tsuji, H., Wada, K., Kuwabara, A., Tanaka, K., and Inagaki, N. Patients' perception on the nutritional Therapy for diabetic neuropathy. *Jap. Clin. Med.* 5: 9-13, 2014
 7. Kimura, H., Matsuda, H., Fujimoto, H., Arimitsu, K., Toyoda, K., Mukai, E., Makamura, H., Ogawa, Y., Takagi, M., Ono, M., Inagaki, N., and Saji, H. Synthesis and evaluation of ¹⁸F-labeled mitiglinide derivatives as positron emission tomography tracers for β -cell imaging. *Bioorg. Med. Chem.* 22: 3270-3278, 2014
 8. Seino, Y., Inagaki, N., Miyahara, H., Okuda, I., Bush, M., Ye, J., Holland, C., Johnson, S., Lewis, E., and Nakajima, H. A randomized dose-finding study demonstrating efficacy and tolerability of albiglutide in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Curr. Med. Res. Opin.* 30: 1095-1106, 2014.
 9. Kaku, K., Inagaki, N., and Kobayashi, N. Long-term effect of mitiglinide over 52 weeks in Japanese diabetics inadequately controlled with DPP-4 inhibitor or biguanide monotherapy. *Diabetes Ther.* 5: 97-111, 2014.
 10. Nishimura, A., Harashima, S.-I., Honda, I., Shimizu, Y., Harada, N., Nagashima, K., Hamasaki, A., Hosoda, K., and Inagaki, N. Color record in self-monitoring of blood glucose improves glycemic control by better self-management. *Diabetes Technol. Ther.* 16: 447-453, 2014.
 11. Nasteska, D., Harada, N., Suzuki, K., Yamane, S., Hamasaki, A., Joo, E., Mori, K., Shibue, K., Harada, T., and Inagaki, N. Chronic reduction of GIP secretion alleviates obesity and insulin resistance under high fat diet condition. *Diabetes* 63: 2332-2343, 2014.
 12. Inagaki, N., Kondo, K., Yoshinari, T., Takahashi, N., Susuta, Y., and Kuki, H. Efficacy and safety of canagliflozin monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes inadequately controlled with diet and exercise: a 24-week, randomized, double-blind, placebo-controlled, Phase III study. *Expert Opin. Pharmacother.* 15: 1501-1515, 2014
 13. Ogata, H., Seino, Y., Harada, N., Iida, A., Suzuki, K., Izumoto, T., Ishikawa, K., Uenishi, E., Ozaki, N., Hayashi, Y., Miki, T., Inagaki, N., Tsunekawa, S., Hamada, Y., Seino, S., Oiso, Y. K_{ATP} channel as well as SGLT1 participates in GIP secretion in the diabetic state. *J. Endocrinol.* 222: 191-200, 2014.
 14. Kadowaki, T., Haneda, N., Inagaki, N., Terauchi, Y., Taniguchi, A., Koiwai, K., Rattunde, H., Woerle, H.J. and Broedl, U.C. on behalf of the EMPA-REG DOSEJAPANTM trial investigators. Empagliflozin monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes: a randomized, 12-week, double-blind, placebo-controlled Phase II trial. *Adv. Ther.* 31: 621-638, 2014.
 15. Koie, M., Kondo, Y., Santou, T., Kitamoto, Y., Morita, S., Yamasaki, M., Fukushima, M., Inagaki, N., and Yasuda, K. Effects of non-statin antilipidemic drugs on vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes with hypercholesterolemia. *Diabetol. Int.* 5: 175-180, 2014.
 16. Sakai, T., Kusakabe, T., Ebihara, K., Aotani, D., Yamamoto-Kataoka, S., Mingming, Z., Gumbiali, V. M., Ebihara, C., Aizawa-Abe, M., Yamamoto, Y., Noguchi, M., Fujikura, J., Hosoda, K., Inagaki, N., and Nakao, K. Leptin restores the insulinotropic effect of exenatide in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and high-fat diet. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 307: E712-719.
 17. Ikeda, K., Fujimoto, S., Morling, B., Ayano-Takahara, S., Carroll, A. E., Harashima, S.-I., Uchida, Y., and Inagaki, N. Social orientation and diabetes-related distress in Japanese and American patients with type 2 diabetes. *PLoS One*, 9(10):e109323.
 18. Inagaki, N., Ueki, K., Tanizawa, Y., Watada, H., Nakamura, J., Yamada, Y., Shimomura, I., Nishimura, R., Yamadaki, T., and Kadowaki, T. Protocol for a large-scale prospective observational study with alogliptin in patients with type 2 diabetes: J-BRAND Registry. *BMJ Open* 16;4(9):e004760, 2014.
 19. Tsusaka, T., Guo, T., Yagura, T., Inoue, T., Yokode, M., Inagaki, N., and Kondoh, H. Deacetylation of phosphoglycerate mutase in its distinct central region by SIRT2 down-regulates its enzymatic activity. *Genes Cells* 19: 766-777, 2014.
 20. Hamaguchi, Y., Kaido, T., Okumura, S., Fujimoto, Y., Ogawa, K., Mori, A., Hammad, A., Tamai, Y., Inagaki, N., and Uemoto, S. Impact of quality as well as quantity of skeletal muscle on outcomes after liver transplantation. *Liver Transpl.* 20: 1413-1419, 2014.
 21. Inagaki, N., Kondo, K., Yoshinari, T., Ishii, M., Sakai, M., Kuki, H., and Furihata, K. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles of canagliflozin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus and moderate renal impairment. *Clin. Drug Investig.* 34: 731-742, 2014.
 22. Ghani, G., Ogura, M., Iwasaki, M., Yokoi, N., Minami, K., Nakayama, Y., Harada, K., Hastoy, B., Wu, X., Takahashi, H., Kimura, K., Matsubara, T., Hoshikawa, R., Hatano, N., Sugawara, K., Shibasaki, T., Inagaki, N., Bamba, T., Mizoguchi, A., Fukusaki, E., Rorsman, P., and Seino, S. Glutamate acts as a key signal linking glucose metabolism to incretin/cAMP action to amplify insulin secretion. *Cell Rep.* 23: 661-673, 2014.
 23. Aoyama-Sasabe, S., Xin, X., Taniguchi, A., Nakai, Y., Mitsui, R., Tsuji, H., Yabe, D., Yasuda, K., Kurose, T., Inagaki, N., Seino, Y., and Fukushima, M. Relationship and factors responsible for regulating fasting and post-challenge plasma glucose levels in the early stage development of type 2 diabetes mellitus. *J. Diabetes Investig.* 5: 663-670, 2014.
 24. Mukai, E., Ohta, T., Kawamura, H., Lee, E.-Y., Morita, A., Sasase, T., Miyajima, K., Inagaki, N., Iwanaga, T., and Miki, T. Enhanced vascular endothelial growth factor signaling in islets contributes to β cell injury and consequential diabetes in Spontaneously diabetic Torii rats. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 106: 303-311, 2014.
 25. Hayakawa, N., Nakamoto, Y., Kurihara, K., Yasoda, A., Kanamoto, N., Miura, A., Inagaki, N., and Togashi, K. A comparison between ¹¹C-methionine PET/CT and MIBI SPECT/CT for localization of parathyroid adenomas/hyperplasia. *Nucl. Med. Commun.* 36: 53-59, 2015
 26. Ayano-Takahara, S., Ikeda, K., Fujimoto, S., Hamasaki, A., Harashima, S.-I., Toyoda, K., Fujita, Y., Nagashima, K., Tanaka, D., and Inagaki, N. Glycemic variability is associated with quality of life and treatment satisfaction in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 38: e1-2, 2015.

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

27. Inagaki, N., Onouchi, H., Maezawa, H., Kuroda, S., and Kaku, K. Once-weekly trelagliptin versus daily alogliptin in Japanese patients with type 2 diabetes: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 3: 191-197, 2015.
 28. Iwasaki, K., Harada, N., Sasaki, K., Yamane, S., Iida, K., Suzuki, K., Hamasaki, A., Nasteska, D., Shibue, K., Joo, E., Harada, T., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Hirasawa, A., and Inagaki, N. Free fatty acid receptor GPR120 is highly expressed in enteroendocrine K cells of the upper small intestine and has a critical role in GIP secretion after fat ingestion. *Endocrinology* 156: 837-846, 2015.
 29. Inagaki, N., Kondo, K., Yoshinari, T., and Kuki, H. Efficacy and safety of canagliflozin alone or as add-on to the other oral antihyperglycemic drugs in Japanese patients with type 2 diabetes: a 52-week open-label study. *J. Diabetes Investig.* 6: 210-218, 2015
 30. Yabe, D., Kuroe, A., Watanabe, K., Iwasaki, M., Hamasaki, A., Hamamoto, Y., Harada, N., Yamane, S., Lee, S., Murotani, K., Deacon, C. F., Holst, J. J., Hirano, T., Inagaki, N., Kurose, T., and Seino, Y. Early phase glucagon and insulin secretory abnormalities, but not incretin secretion, are similarly responsible for hyperglycemia after ingestion of nutrients. *J Diabetes Complications* 29: 413-421, 2015
 31. Seino, Y., Inagaki, N., Haneda, M., Sasaki, T., Fukatsu, A., Ubukata, M., and Samukawa, Y. Efficacy and safety of luseogliflozin added to various oral antidiabetic drugs in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Diabetes Investig.* 6(4):443-53, 2015.
 32. Takeda, E., Yamanaka-Okumura, H., Taketani, Y., Inagaki, N., Hosokawa, M., Shide, K., Maegawa, H., Kondo, K., Kawasaki, E., Shinozaki, S., Fujinaka, Y., Matsubara, T., Katayama, T., Sasaki, H., Kawashima, A., and Aonuma, H. Effect of nutritional counseling and long term isomaltulose based liquid formula (MHN-01) intake on metabolic syndrome. *J. Clin. Biochem. Nutri.*, 57:140-4, 2015.
 33. Shibue, K., Yamane, S., Harada, N., Hamasaki, A., Suzuki, K., Joo, E., Iwasaki, K., Nasteska, D., Harada, T., Hayashi, Y., Adachi, Y., Owada, Y., Takayanagi, R., and Inagaki, N. Fatty acid binding protein 5 (FABP5) regulates diet-induced obesity (DIO) via GIP secretion from enteroendocrine K-cells in response to fat ingestion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 308(7):E583-91, 2015.
 34. Umakoshi, H., Tanase-Nakao, K., Wada, N., Ichijo, T., Sone, M., Inagaki, N., Katabami, T., Kamemura, K., Matsuda, Y., Fujii, Y., Kai, T., Fukuoka, T., Sakamoto, R., Ogo, A., Suzuki, T., Tsuiki, M., Shimatsu, A., and Naruse, M. Importance of contralateral aldosterone suppression during adrenal sampling in the subtype evaluation of primary aldosteronism. *Clin. Endocrinol.* 83(4):462-7, 2015.
 35. Kondo, E., Yasoda, A., Fujii, T., Nakao, K., Yamashita, Y., Ueda-Sakane, Y., Kanamoto, N., Miura, M., Arai, H., Mukoyama, M., Inagaki, N., and Nakao, K. Increased bone turnover and possible accelerated fracture healing in a murine model with an increased circulating C-type natriuretic peptide. *Endocrinology*, 156:2518-29, 2015.
 36. Kadowaki, T., Haneda, N., Inagaki, N., Terauchi, Y., Taniguchi, A., Koiwai, K., Rattunde, H., Woerle, H. J. and Broedl, U. C. on behalf of the EMPA-REG DOSEJAPAN™ trial investigators. Efficacy and safety of empagliflozin monotherapy for 52 weeks in Japanese patients with type 2 diabetes: a randomized double-blind, parallel-group study. *Adv. Ther.*, 32(4):306-18, 2015.
 37. Obara, A., Fujita, Y., Abudukadier, A., Fukushima, T., Oguri, Y., Ogura, M., Harashima, S.-I., Hosokawa, M., and Inagaki, N. DEPTOR-related mTOR suppression is involved in metformin's anti-cancer action in human liver cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 15:460:1047-52, 2015.
 38. Joo E, Muraoka A, Hamasaki A, Harada N, Yamane S, Kondo Y, Suzuki K, Nasteska D, Shibue K, Harada T, Iwasaki K, Tsuji H, Shide K, Inagaki N. Enteral supplementation with glutamine, fiber, and oligosaccharide modulates incretin and glucagon-like peptide-2 secretion. *J Diabetes Investig.* 6:302-8, 2015.
 39. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, Vantghem MC, Maffi P, Kay TW, Keymeulen B, Inagaki N, Saudek F, Lehmann R, Hering BJ. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care.* 38(6):1016-29, 2015.
 40. Mikawa T, Leonart ME, Takaori-Kondo A, Inagaki N, Yokode M, Kondoh H. Dysregulated glycolysis as an oncogenic event. *Cell Mol Life Sci.* 72:1881-92, 2015.
 41. Asahara S, Etoh H, Inoue H, Teruyama K, Shibutani Y, Ihara Y, Kawada Y, Bartolome A, Hashimoto N, Matsuda T, Koyanagi-Kimura M, Kanno A, Hirota Y, Hosooka T, Nagashima K, Nishimura W, Inoue H, Matsumoto M, Higgins MJ, Yasuda K, Inagaki, N, Seino S, Kasuga M, Kido Y. Paternal allelic mutation at the Kcnq1 locus reduces pancreatic β -cell mass by epigenetic modification of Cdkn1c. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112:8332-7, 2015.
 42. Araki E, Inagaki N, Tanizawa Y, Oura T, Takeuchi M, Imaoka T. Efficacy and safety of once-weekly dulaglutide in combination with sulphonylurea and/or biguanide compared with once-daily insulin glargine in Japanese patients with type 2 diabetes: a randomized, open-label, phase III, non-inferiority study. *Diabetes Obes Metab.* 17:994-1002, 2015
 43. Ayano-Takahara S, Ikeda K, Fujimoto S, Asai K, Oguri Y, Harashima S, Tsuji H, Shide K, Inagaki N. Carbohydrate intake is associated with time spent in the euglycemic range in patients with type 1 diabetes. *J Diabetes Investig.* 6:678-86, 2015.
 44. Kondo Y, Harada N, Hamasaki A, Kaneko S, Yasuda K, Ogawa E, Harashima S, Yoneda H, Fujita Y, Kitano N, Nakamura Y, Matsuo F, Shinji M, Hinotsu S, Nakayama T, Inagaki N. Sitagliptin monotherapy has better effect on insulinogenic index than glimepiride monotherapy in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetol Metab Syndr.* 27;8:15, 2016.
 45. Sato H, Nagashima K, Ogura M, Sato Y, Tahara Y, Ogura K, Yamano G, Sugizaki K, Fujita N, Tatsuoka H, Usui R, Mukai E, Fujimoto S, Inagaki N. Src regulates insulin secretion and glucose metabolism by influencing subcellular localization of glucokinase in pancreatic β -cells. *J Diabetes Investig.* 7(2):171-8, 2016.
- [学会発表] (計 11 件)
1. 稲垣暢也. インスリン分泌能の評価法. 第 28 回日本糖尿病・肥満動物学会, 宮崎市民プラザ, 2014/2/15.
 2. 稲垣暢也. 2 型糖尿病における GLP-1 受容体作動薬の位置づけ. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 大阪国際会議場, 2014/5/22
 3. 稲垣暢也. 膵 β 細胞の保護を考える. 第 57 回日本糖尿病学会年次学術集会, 大阪国際会議場, 2014/5/23
 4. Inagaki, N. 他. Efficacy and Safety of Canagliflozin

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

- (CANA) in Japanese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) Inadequately Controlled with Diet and Exercise over 24 Weeks. The American Diabetes Association's 74th Scientific Sessions, San Francisco, U.S.A., 2014/6/15.
- Inagaki, N. 他. Efficacy and safety of trelagliptin, a novel once-weekly oral DPP-4 inhibitor: a phase 3, double-blind, non-inferiority study in Japanese T2DM. 2014 EASD Annual Meeting, Vienna, Austria, 2014/9/16.
 - 稲垣暢也. 糖尿病治療:最新の進歩. 第24回内分泌代謝 Update 市民公開講座. さいたま市, 2014/11/29.
 - 稲垣暢也. 腸管と栄養 - インクレチン分泌のメカニズムとその制御 -. 第18回日本病態栄養学会年次学術集会. 京都国際会館, 2015/1/10.
 - Inagaki, N. Physiology and pathophysiology of the incretins: from bench to bedside and vice versa. 2015 Annual Meeting of the Diabetes Association of the ROC(Taiwan). Taipei, Taiwan, 2015/3/22.
 - 稲垣暢也, 谷澤幸生, 荒木栄一, 大浦智紀, 竹内雅和, 今岡丈士. SU薬/BG薬で治療中の2型糖尿病患者における Dulaglutide のインスリングルルギンを対象薬とした並行群間比較試験. 第58回日本糖尿病学会年次学術集会. 下関市, 2015/5/21.
 - Inagaki N, Yamane S, Harada N. The mechanisms of fat-induced GIP secretion from K-cells. Incretin 2015, Vancouver, Canada, 2015/7/30.
 - 稲垣暢也. 糖尿病の現状とインクレチン療法の有用性, 第52回日本糖尿病学会近畿地方会. 国立京都国際会館, 2015/11/14.

[図書] (計9件)

- 原田範雄, 稲垣暢也. 【糖尿病-診断・治療 Update-】GLP-1 受容体作動薬による治療, 最新医学, 最新医学社, 69巻1号 97-104, 2014
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【DPP-4 阻害薬登場後の糖尿病治療の変化】インクレチン関連薬の作用機序, カレントセラピー, ライフメディコム, 32巻4号 356-362, 2014.
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【グルカゴンの分泌調節と作用】GLP-1 の生成と分泌について. 内分泌・糖尿病・代謝内科, 38巻5号 417-423, 2014.
- 岩崎可南子, 原田範雄, 稲垣暢也. 【インクレチン製剤と心血管代謝病】インクレチンの肥満に及ぼす影響. 血管医学. メディカルレビュー社 15巻4号 369-375, 2014.
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【DPP-4 阻害薬-前向き大規模臨床試験に期待するもの】DPP-4 阻害薬の効果と現状. 糖尿病の最新治療. フジメディカル出版 6巻1号 10-15, 2014.
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【糖尿病の療養指導 Q&A】週1回投与型 DPP-4 阻害薬の特徴と利便性. プラクティス 32巻5号 578-580, 2015.
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【糖尿病治療新時代-糖尿病治療の update-】新しい糖尿病治療薬の現状と開発動向 週1回投与 DPP-4 阻害薬. 日本臨床 73巻12号 P2096-2102, 2015.
- 原田範雄, 稲垣暢也. 【インクレチン薬による糖尿病治療の革新-基礎と臨床の架け橋-】臨床 長期作用型インクレチン関連薬について. 最新医学 71巻1号, 89-96, 2016.

- 三小田亜希子, 原田範雄, 稲垣暢也. 【糖尿病 基礎分野での進歩】糖尿病治療標的としてのGタンパク質共役脂肪酸受容体. Annual Review 糖尿病・代謝・内分泌 2016 巻 35-42, 2016.

[産業財産権] なし

6. 研究組織

- 研究代表者 稲垣 暢也 (Nobuya Inagaki)
京都大学・医学(系) 研究科・教授 研究者番号:
30241954
- 研究分担者 原田 範雄 (Norio Harada)
京都大学・医学(系) 研究科・助教 研究者番号:
50530169