

機関番号：14301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591094

研究課題名 (和文)

インスリン抵抗性に続発するインスリン分泌異常の分子機構の解明—GPR40 の検討—

研究課題名 (英文)

Elucidation of molecular mechanisms of insulin secretion disorders secondary to insulin resistance -study of GPR40-

研究代表者

細田 公則 (HOSODA KIMINORI)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：40271598

研究成果の概要 (和文) : GPR40 は中・長鎖の遊離脂肪酸をリガンドとする Gq 共役型受容体である。GPR40 は膵β細胞にほぼ特異的に高発現し、グルコース応答性インスリン分泌の増強に関与することが報告されてきた。遺伝性肥満コレツキーラットにて、膵島 GPR40 遺伝子発現を検討した。著明な肥満、インスリン分泌低下を呈する 14 週齢の *fa^h/fa^h* で、膵島での GPR40 mRNA レベルは非肥満対照の約 1/3 に著明に低下していた。

研究成果の概要 (英文) : GPR40 is a Gq-coupled receptor, the ligand of which is middle-chain and long-chain free fatty acids. GPR40 has been reported to be expressed in pancreatic beta cells and implicated in augmentation of insulin secretion. We investigated GPR40 gene expression in pancreatic islets in genetically obese Koletsky rats. In 14-week-old Koletsky rats which shows severe obesity and sufficiency of insulin secretion, GPR40 levels were approximately 25% of those in nonobese lettermates.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：インスリン分泌 GPR40 肥満

1. 研究開始当初の背景

研究代表者の細田、連携研究者富田は、肥満・インスリン抵抗性におけるインスリン分泌異常に関与する分子の候補として、中長鎖脂肪酸をリガンドとする、新規に日本で同定された G 蛋白共役型受容体 40 (GPR40) (Itoh Nature 422:173,2003) に着目し、ヒトで GPR40 のグルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) への関与を報告している (Tomita

Diabetologia. 49: 962, 2006; Tomita Biochem Biophys Res Commun. :338:1788, 2005)。

2. 研究の目的

肥満・インスリン抵抗性の進展とともに、インスリン分泌異常が生じ、糖尿病の発症・進展につながるが、そこには、膵β細胞で肥満・インスリン抵抗性を感知し、代償性イン

スリン分泌亢進を引き起こし、さらに代償性分泌亢進の破綻に至る未解明の分子機構があると考えられ、その解明は糖尿病の発症予防と進展抑制、新規糖尿病治療薬の開発につながると期待される。本研究は、その未解明の分子機構の解明を目指す。

3. 研究の方法

我々が遺伝子異常を解明した遺伝性肥満モデル(Nat Genet, 1996)コレツキーラット(*fak/fak*)にて、臍島でのGPR40遺伝子発現をTaqMan PCRにて検討した。

4. 研究成果

著明な肥満およびインスリン初期分泌低下を呈する14週齢の*fak/fak*で、臍島でのGPR40 mRNAレベルは非肥満対照(+/)の約1/3に著明に低下していた。また、14週齢*fak/fak*の単離臍島にて、GPR40のリガンドである長鎖脂肪酸のオレイン酸によるインスリン分泌増強は著明に低下していた。また、GPR40のプロモータ領域に結合ドメインが報告されているPdx1のmRNAレベルは、*fak/fak*の臍島で+/>の約1/2に低下していた。*fak/fak*がレプチン受容体欠損動物であることから、臍島での中性脂肪レベルを定量したところ、*fak/fak*にて+/>の約3倍に著明に増加していた。【結論】脂質蓄積のある臍β細胞で、GPR40遺伝子発現低下が示された。GPR40はインスリン分泌調節増強に関与することが知られており、臍島でのGPR40発現低下とインスリン分泌調節異常の関連が示唆される。また、我々の検討から、コレツキーラットが脂肪蓄積と臍β細胞機能異常の研究ツールとして有用である可能性が示された。

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14件)

1. H. Iwakura, Y. Li, H. Ariyasu, H. Hosoda, N. Kanamoto, M. Bando, G. Yamada, K. Hosoda, K. Nakao, K. Kangawa, T. Akamizu. Establishment of a Novel Ghrelin-Producing Cell Line. *Endocrinology*, 151(6):695-705, 2010, 査読有
2. K. Tomiyama, R. Maeda, I. Urakawa, Y. Yamazaki, T. Tanaka, S. Ito, Y. Nabeshima, T. Tomita, S. Odori, K. Hosoda, K. Nakao, A. Imura, Y. Nabeshima Relevant use of Klotho in FGF19 subfamily signaling system in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26;107(4):1666-71, 2010, 査読有
3. S. Yasue, H. Masuzaki, S. Okada, T. Ishii, C. Kozuka, T. Tanaka, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Hosoda, A. Katsurada, N. Ohashi, M. Urushihara, H. Kobori, N. Morimoto, T. Kawazoe, M. Naitoh, M. Okada, H. Sakaue, S. Suzuki, K. Nakao. Adipose Tissue-Specific Regulation of Angiotensinogen in Obese Humans and Mice: Impact of Nutritional Status and Adipocyte Hypertrophy. *Am J Hypertens*. 23(4): 425-31, 2010, 査読有
4. S. Okada, C. Kozuka, H. Masuzaki, S. Yasue, T. Ishii-Yonemoto, T. Tanaka, Y. Yamamoto, M. Noguchi, T. Kusakabe, T. Tomita, J. Fujikura, K. Ebihara, K. Hosoda, H. Sakaue, H. Kobori, M. Ham, YS. Lee, JB. Kim, Y. Saito, K. Nakao. Adipose tissue-specific dysregulation of angiotensinogen by oxidative stress in obesity. *Metabolism* 59, 1241-1251, 2010, 査読有
5. T. Ishii-Yonemoto, H. Masuzaki, S. Yasue, S. Okada, C. Kozuka, T. Tanaka, M. Noguchi, T. Tomita, J. Fujikura, Y. Yamamoto, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Nakao Glucocorticoid reamplification within cells intensifies NFB and MAPK signaling and reinforces inflammation in activated preadipocytes *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299(1): E142, 2010, 査読有
6. M. Iwanishi, K. Ebihara, T. Kusakabe, W. Chen, J. Ito, H. Masuzaki, K. Hosoda, K. Nakao. Clinical characteristics and efficacy of pioglitazone in a Japanese diabetic patient with an unusual type of familial partial lipodystrophy. *Metabolism*. 58(12):1681-7. 2009, 査読有
7. K. Nakao, A. Yasuda, K. Ebihara, K. Hosoda, M. Mukoyama. Translational research of novel hormones: lessons from animal models and rare human diseases for common human diseases. *J Mol Med*. 87(10):1029-39, 2009, 査読有
8. H. Iwakura, H. Ariyasu, Y. Li, N. Kanamoto, M. Bando, G. Yamada, H. Hosoda, K. Hosoda, A. Shimatsu, K. Nakao, K. Kangawa, T. Akamizu. A mouse model of ghrelinoma exhibited activated growth hormone-insulin-like growth factor I axis and glucose intolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 297(3):E802-11, 2009, 査読有
9. D. Taura, M. D., M. Noguchi, M. Sone, K. Hosoda, E. Mori, Y. Okada, K. Takahashi, K. Homma, N. Oyamada, M. Inuzuka, T. Sonoyama, K. Ebihara, N. Tamura, H. Itoh, H. Suemori, N. Nakatsuji,

H. Okano, S. Yamanaka, K. Nakao
Adipogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells: comparison with that of human embryonic stem cells FEBS Lett. 583(6):1029-33. 2009, 査読有

10. T. Kusakabe, H. Tanioka, K. Ebihara, M. Hirata, L. Miyamoto, F. Miyanaga, H. Hige, D. Aotani, T. Fujisawa, H. Masuzaki, K. Hosoda, K. Nakao.
Beneficial effects of leptin on glycaemic and lipid control in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet. Diabetologia. 52(4):675-83. 2009, 査読有

11. H. Masuzaki, T. Tanaka, K. Ebihara, K. Hosoda, K. Nakao.
Hypothalamic melanocortin signaling and leptin resistance—perspective of therapeutic application for obesity-diabetes syndrome. Peptides. 30(7):1383-6. 2009, 査読有

12. T. Shiga, T. Hamaguchi, Y. Oshima, H. Kanai, M. Hirata, K. Hosoda, K. Nakao
A new simple measurement system of visceral fat accumulation by bioelectrical impedance analysis IFMBE 25: 338-341, 2009, 査読有

13. N. Kobayashi, H. Masuzaki, T. Tanaka, S. Yasue, T. Ishii, T. Tomita, T. Miyawaki, T. Komeda, Y. Fukuda, T. Kusakabe, M. Noguchi, J. Fujikura, K. Ebihara, M. Hirata, K. Hosoda, N. Satoh, M. Nakajima, Y. Okabayashi, T. S. Sato and K. Nakao.
Index of the systemic balance of end products of glucocorticoid metabolism in fresh urine from humans. Its potential usefulness in the evaluation of obesity-related diseases. Obesity Research and Clinical Practice, 3(2):53-63. 2009, 査読有

14. H. Iwakura, H. Ariyasu, N. Kanamoto, K. Hosoda, K. Nakao, K. Kangawa, T. Akamizu.
Establishment of a novel neuroblastoma mouse model. Int J Oncol. Dec;33(6):1195-9. 2008, 査読有

[学会発表] (計 10 件)

1. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 日下部徹, 海老原健, 益崎裕章, 中尾一和
新規の G 蛋白共役型—脂肪酸受容体 GPR40 の遺伝子肥満モデルの膝島での発現調節
第 31 回日本肥満学会、2010. 10. 1-2、群馬県前橋市

2. T. Tomita, K. Hosoda, S. Odori, J.

Fujikura, K. Nakao

Gene expression of a G protein-coupled receptor, GPR119, in humans
11th International Congress on Obesity (Stockholm, Sweden) July 11 -15, 2010

3. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 日下部徹, 海老原健, 益崎裕章, 中尾一和
膝β細胞に高発現し, 中・長鎖の遊離脂肪酸をリガンドとする G 蛋白共役型—脂質受容体 GPR40 の遺伝子肥満モデルの膝島での発現調節
第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、2010. 5. 27-29、岡山

4. T. Tomita, K. Hosoda, S. Odori, J. Fujikura, H. Iwakura, M. Noguchi, T. Kusakabe, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Nakao
Gene Expression of a G Protein-coupled Receptor, GPR40, in Pancreatic Islets of a Genetically Obese Rat Mode
Keystone Symposia (Whistler, British Columbia, Canada) April 12-17, 2010

5. T. Tomita, K. Hosoda, S. Odori, J. Fujikura, H. Iwakura, M. Noguchi, E. Mori, M. Naito, T. Kusakabe, K. Ebihara, H. Masuzaki, K. Nakao
Decreased gene expression of a G protein-coupled fatty acid receptor GPR40 in pancreatic islets of Koletsky rats
14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) (Kyoto, Japan) March 26-30, 2010

6. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 森栄作, 内藤雅喜, 海老原健, 益崎裕章, 中尾一和
G 蛋白共役型受容体 40 (GPR40) の肥満・糖代謝異常における意義の検討
第 82 回 日本内分泌学会学術総会、2009. 4. 23-25、群馬

7. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 森栄作, 海老原健, 平田雅一, 益崎裕章, 中尾一和
G 蛋白共役型受容体 40 (GPR40) の肥満・糖代謝異常の発症・進展における意義の検討
第 29 回日本肥満学会、2008. 10. 17-18、大分

8. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 海老原健, 平田雅一, 益崎裕章, 中尾一和
G 蛋白共役型—脂肪酸受容体 GPR40 の糖尿病でのインスリン分泌調整異常における病態

生理的意義の検討

第 51 回日本糖尿病学会年次学術集会、
2008. 5. 22-24、東京

9. 富田努, 細田公則, 小鳥真司, 藤倉純二, 岩倉浩, 野口倫生, 海老原健, 平田雅一, 益崎裕章, 中尾一和

肥満を基盤とする耐糖能異常の発症・進展における G 蛋白共役型脂肪酸受容体 GPR40 の意義の検討 - 遺伝性肥満 Koletsky ラットの膵島での GPR40 遺伝子発現 -
第 81 回 日本内分泌学会学術総会、
2008. 5. 16-18、青森

10. T. Tomita, K. Hosoda, S. Odori, J. Fujikura, H. Iwakura, M. Noguchi, K. Ebihara, M. Hirata, H. Masuzaki, K. Nako.
Decreased Gene Expression of a Membrane-Bound Fatty Acid Receptor, GPR40, in Pancreatic Islets in Koletsky Rats, a Genetically Obese Model with Dysregulated Insulin Secretion
Keystone Symposia (Islet and Beta Cell Biology) (Snowbird, Utah) April 6-11, 2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細田 公則 (HOSODA KIMINORI)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：40271598

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

益崎 裕章 (MASUZAKI HIROAKI)
京都大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：00291899

海老原 健 (EBIHARA KEN)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：70362514

藤倉 純二 (FUJIKURA JUNJI)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：70378743

岩倉 浩 (IWAKURA HIROSHI)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：20378615

富田 努 (TOMITA TSUTOMU)
京都大学・大学院医学研究科・非常勤講師
研究者番号：50402897

野口 倫生 (NOGUCHI MICHIO)
京都大学・大学院医学研究科・特定研究員
研究者番号：00432394