

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09780

研究課題名(和文) GPR40 - インクレチンシグナル系による新規の脂肪肝・脂質代謝異常改善機構の解明

研究課題名(英文) Exploration of the possible role of GPR40-incretin signals in improvement of fatty liver, glucose intolerance and dyslipidemia

研究代表者

富田 努 (Tomita, Tsutomu)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・室長

研究者番号：50402897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、GPR40の生理的意義を探索を目的とし、GPR40ノックアウト(KO)ラットを作成し、代謝を中心にWTラットと比較した。体重、摂餌量、空腹時血中脂質(遊離脂肪酸、中性脂肪、総コレステロール)濃度、腹腔内インスリン負荷試験(ipITT)での負荷後血糖低下率はGPR40KOラットとWTラットで差がなかった。GPR40KOラットで腹腔内糖負荷試験(ipGTT, 2g/kg)でWTラットと比べ血糖は負荷後30分から120分まで有意に高値で、血中インスリン濃度は負荷後15分のみWTラットと比べ著明に低値だった。本研究の結果から、GPR40の糖代謝調節での生理的意義が強く示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、不明な点が多かったGPR40の役割の一端を解明した。本研究によりGPR40の治療的意義が解明する事により治療法として、GPR40作動系の薬剤開発の進展につながる。G蛋白共役型受容体によるインスリン分泌増強であれば、単剤では低血糖を来しにくいと予測される。こうした薬剤は患者の負担感が少なく、薬剤アドヒアランスが高いことが知られている。これらの取り組みにより糖脂質代謝異常の改善に寄与することが予想され、薬剤アドヒアランスを含めた患者QOLが向上することが想定され、また国民のライフスタイルなど幅広い意味で社会に与えるインパクトや貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：Though GPR40 is implicated in glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) in vitro, GPR40 knockout (KO) mice have essentially normal glucose tolerance and insulin secretion in vivo. The aim of this study was to explore physiological significance of GPR40. In Sprague-Dawley rats, a widely used animal model in physiology and pharmacology, we applied zinc-finger nucleases and established GPR40 KO rats. Glucose and lipid metabolism were assessed in GPR40KO rats and compared with wildtype (WT) littermates. There was no significant difference between GPR40KO and WT rats in body weight and food intake. During intraperitoneal glucose tolerance test (ipGTT), glucose levels were increased in GPR40KO rats and associated with decreased insulin levels at 15min after glucose load. These results suggest physiological implication of GPR40 in glucose metabolism.

研究分野：糖尿病・脂質代謝

キーワード：GPR40 脂肪酸受容体 脂質異常症 糖代謝異常 創薬標的

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心血管イベントの危険因子として知られるメタボリックシンドロームで耐糖能異常はその病態で重要な役割を果たし、膵細胞でのインスリン分泌調節異常が強く関与する。申請者らは早くからこれらの病態に注目し、分子機序を基盤とした膵細胞研究 (Cell Metab. 3(1):59-65, 2006, Diabetes. 60(9):2265-73, 2011) を行ってきた。しかし、メタボリックシンドロームの病態の理解は未だに不十分である。

G 蛋白共役型受容体 40(GPR40)は 300 残基のアミノ酸からなる 7 回膜貫通型受容体で、中鎖脂肪酸をリガンドして膵 β 細胞に高発現しグルコース応答性インスリン分泌(glucose-stimulated insulin secretion [GSIS])の増強に関与すると報告されたことから、糖尿病での新規治療標的として注目されてきた。しかし、その生理的意義は不明な点が多い。

2. 研究の目的

そこで我々は、GPR40 の生理的意義を解明する目的で、前臨床試験で用いられることの多い Sprague-Dawley(SD)ラットにて GPR40 遺伝子破壊をデザインした zinc finger nuclease(ZFN)を用いて、GPR40 遺伝子のコーディング領域に 1 塩基欠失とそれに伴うフレームシフトおよび未成熟終止コドンを生成する変異のヘテロ接合体の成体個体を得た。交配によりその変異のホモ接合体を作成したところ、GPR40 アゴニスト(TAK-875 [fasiglifam])投与下での腹腔内ブドウ糖負荷試験で正常ホモ接合体にて観察されたインスリン分泌の上昇および血糖の低下が見られず、また GPR40 の C 末を免疫原として作成されたポリクローナル抗体にて正常ホモ接合体で膵島インスリン陽性領域にて観察されたシグナルが、この変異ホモ接合体においては検出されなかった。以後、この変異ホモ接合体を GPR40KO ラット、正常ホモ接合体を WT ラットと呼ぶ。

3. 研究の方法

本研究では、上述の GPR40KO ラットと WT ラットにて、糖脂質代謝異常を解析した。具体的には、GPR40KO ラットにて糖代謝を中心に評価し、WT ラットと比較した。体重、摂餌量、空腹時血中脂質(遊離脂肪酸、中性脂肪、総コレステロール)濃度、腹腔内インスリン負荷試験(ipITT)での負荷後血糖低下率、糖負荷試験での血糖および血中インスリンの推移を観察した。

4. 研究成果

GPR40KO ラットにて糖代謝を中心に評価し、WT ラットと比較した。体重、摂餌量、空腹時血中脂質(遊離脂肪酸、中性脂肪、総コレステロール)濃度、腹腔内インスリン負荷試験での負荷後血糖低下率は GPR40KO ラットと WT ラットで差がなかった。

次に糖負荷および食事負荷を行った。GPR40KO ラットで、腹腔内糖負荷試験(ipGTT, 2g/kg)にて WT ラットと比べ血糖は負荷後 30 分から 120 分まで有意に高値を示し、血中インスリン濃度はそれに先立つ負荷後 15 分のみ WT ラットと比べ著明に低値だった。さらに、経口食事負荷試験では、GPR40KO ラットで WT ラットと比べ、負荷後 15 分および 30 分で有意に

血糖が上昇し、負荷後 15 分の血中インスリン濃度が低下していた。

これらの結果から、GPR40 の *in vivo* でのインスリン分泌および糖代謝調節での生理的意義が強く示唆され、GPR40 の作用部位や機序などの解明の端緒として重要と思われる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉良 友里, 富田 努, 細田 公則, 中尾 一和, 稲垣 暢也
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と糖脂質代謝解析
3. 学会等名 第40日本肥満学会・第37回日本肥満症治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉良 友里, 富田 努, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と糖脂質代謝解析
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富田 努, 吉良 友里, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と解析 中長鎖脂肪酸受容体の生理的意義の探索
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田 努, 吉良 友里, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40遺伝子ノックアウト(KO)ラットの作成と解析 糖代謝調節における生理的意義の探索
3. 学会等名 第39回日本肥満学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田 努(国立循環器病研究センター バイオバンク), 吉良 友里, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と解析 中長鎖脂肪酸受容体の生理的意義の探索
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 富田 努, 吉良 友里, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と解析 : 中長鎖脂肪酸受容体の生理的意義の探索
3. 学会等名 第38回日本肥満学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富田 努, 吉良 友里, 細田 公則, 稲垣 暢也, 中尾 一和
2. 発表標題 GPR40ノックアウトラットの作成と解析 : 中長鎖脂肪酸受容体の生理的意義の探索
3. 学会等名 第14回GPCR研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉良 友里, 富田 努, 細田 公則, 藤倉 純二, 海老原 千尋, 阿部 恵, 海老原 健, 中尾 一和, 稲垣 暢也
2. 発表標題 遺伝性肥満モデルmkyo/mkyoラット膝島での脂質受容体GPR40の遺伝子発現調節
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 富田 努, 細田 公則, 小鳥 真司, 吉良 友里, 藤倉 純二, 中尾 一和, 稲垣 暢也
2. 発表標題 遺伝性肥満・耐糖能異常モデルKoletsyラット臍島におけるGPR40発現調節の検討
3. 学会等名 第90回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉良由里、富田努、細田公則、藤倉純二、海老原千尋、阿部恵、海老原健、中尾一和、稲垣暢也
2. 発表標題 遺伝性肥満モデルmkyo/mkyoラット臍島での脂質受容体GPR40の遺伝子発現調節
3. 学会等名 第89回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉良友里、富田努、細田公則、藤倉純二、海老原千尋、阿部恵、海老原健、中尾一和、稲垣暢也
2. 発表標題 非肥満・耐糖能異常モデルGoto-Kakizakiラットと肥満・耐糖能異常モデルmkyo /mkyo ラットにおける臍島でのGPR40の遺伝子発現調節
3. 学会等名 第59回日本糖尿病教学会年次学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 富田努、細田公則、小鳥真司、藤倉純二、中尾一和、稲垣暢也
2. 発表標題 G蛋白共役型 脂肪酸受容体GPR40の遺伝性肥満耐糖能異常モデルコレツキーラットにおける発現調節と意義
3. 学会等名 第59回日本糖尿病教学会年次学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉良友里、富田努、細田公則、藤倉純二、海老原千尋、阿部恵、海老原健、中尾一和、稲垣暢也
2. 発表標題 新規の遺伝性肥満モデルmkyo/mkyoラット腓島における脂肪酸受容体GPR40の遺伝子発現調節
3. 学会等名 第37回日本肥満学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 富田努、細田公則、藤倉純二、中尾一和、稲垣暢也
2. 発表標題 遺伝性肥満・耐糖能異常モデルKoletsyラット腓島でのGPR40遺伝子発現調節
3. 学会等名 第37回日本肥満学会
4. 発表年 2016年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----