

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：84404

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07211

研究課題名（和文）GPR40 - 腸内環境・細菌叢の相互作用による新規の脂質糖代謝異常の改善機構の探索

研究課題名（英文）Exploration for the regulation of glucose and lipid metabolism via GPR40-microbiome interaction

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：1. GPR40Tgラットの解析、GPR40KOラットとの比較：これまでGPR40受容体の過剰発現は機能亢進と関連することが報告されているが、Tgマウスでの報告ではインスリンなど主に膵臓関連プロモーターを用いたものがあるだけで、腸管など他臓器での過剰発現モデルはなかった。ラットGPR40プロモーター下にヒトGPR40を過剰発現させたTgラットを作成し、糖代謝調節に関与している可能性を見出している。  
2. 国立循環器病研究センター（国循）バイオバンクに保管のヒト試料を用いた検討：糖脂質代謝を含む豊富な臨床情報を有する国循バイオバンクに保管のヒトゲノムDNA試料を用いた検討の準備を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、GPR40の糖代謝への関与の可能性が示唆され、GPR40は低分子化合物の標的となりうるClass A G蛋白共役型受容体であることから、その創薬研究の基盤に寄与するものと思われる。

研究成果の概要（英文）：Rat GPR40BAC promotor/human GPR40 Tg rat: though GPR40 Tg mouse is reportedly associated with an enhancement GPR40 function, though its promotor was that for a insulin gene. We generated GPR40 Tg rat whose promotor is rat GPR40 itself, and our results animals were associated with regulation in glucose metabolism. We also performed the preparation for the use of human biosamples that NCVC biobank possesses.

研究分野：糖尿病

キーワード：GPR40 創薬標的 脂肪酸 糖代謝

## 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糖尿病のみならず高脂血症もが克服すべき残余リスクとして注目されている。申請者らは早くから糖代謝異常症の分子基盤に注目して膵細胞研究を行ってきた。近年、rosiglitazone の例など抗糖尿病薬は時に脂質異常症の悪化や心血管イベントを誘発すると報告され、脂質改善作用のある抗糖尿病薬の開発が期待されている。

近年、オーファン受容体として知られていた G 蛋白共役型受容体、GPR40 のリガンドが長鎖脂肪酸であることが示された。GPR40 は齧歯類の膵細胞に高発現し、in vitro において中長鎖脂肪酸によるグルコース応答性インスリン分泌の増強に関与する。

申請者らはこれまで GPR40 のヒト膵細胞での高発現およびヒトでのインスリン分泌調節への関与の可能性を報告してきた。しかし、GPR40 の膵外作用については不明な点が多く、その生理的な意義はほとんど分かっていない。最近、申請者らは、不明な点の多い GPR40 の生理的意義の解明を目的として、従来作成の難しかったラットで新規手法にて GPR40KO 動物を確立した。GPR40 はインスリン分泌増強に関与することから、GPR40KO ラットはインスリン分泌不全を伴う耐糖能異常モデルとなることが予想され、実際にその通りであった。一方、GPR40KO ラットは非肥満でありながら、意外なことに高脂血症をも示した。GPR40 は脂肪組織や肝臓には発現しないとされ、GPR40KO ラットで高脂血症を来す機序は、直接ではなく間接的な作用が予想される。ごく最近、ヒトでインクレチン関連薬 (DPP4 阻害薬) にて、体重に依存しない脂質改善作用の可能性が示された。そこで、申請者らが GPR40KO ラットで食事負荷を行ったところ、負荷後過血糖のみならず、GIP 分泌の低下を認めた。合わせて考えると GPR40-GIP シグナル系が脂質代謝異常改善に関与する可能性が示唆されるが、脂質異常症は 20 週齢を超えて表現型が出るなど、不明な点が多い。表現型が出るのに時間がかかる理由は genomic のみならず environmental な要素が想定され、GIP 分泌細胞 (K 細胞) は腸管に多く存在することなどを鑑みると、GPR40KO ラットで腸内細菌叢が変化し、食物由来の長鎖脂肪酸 (= GPR40 リガンド) シグナルで異常が生じている可能性が想定される。

### 2. 研究の目的

本研究では、新規に確立済みの GPR40-BAC トランスジェニック (Tg) ラットを解析し、過剰発現での表現型を GPR40KO ラットと比較して、GPR40 治療的意義を探索する。

また、動物実験のみならず、国循環バイオバンク (2018 年 10 月末時点で ~12,000 人の試料を保有) に保管されている試料を用いて心血管病を有する症例での糖脂質代謝異常と GPR40 遺伝子多型の関連を探索するほか、通院中の協力者を対象に前向きに観察研究を行う。

本研究で GPR40 のインクレチンシグナル系を介した脂質代謝異常改善のメカニズムの詳細が明らかとなることで、抗糖尿病作用のみならず脂質改善作用を有する新規治療薬の開発に繋がり、広く動脈硬化症の発症進展予防に資する知見が得られることが期待される。

GPR40 は G 蛋白共役型受容体としては比較的小さい Class A グループに属し、経口可能なアゴニストの開発が容易であるとされている。実際、先行していた GPR40 アゴニストの fasiglifam は経口可能である。

### 3. 研究の方法

ラット GPR40BAC プロモーター/ヒト GPR40/2A ペプチド-TdTomato Tg ラット (GPR40 Tg ラット): これまで GPR40 受容体の過剰発現は機能亢進と関連することが報告されているが、Tg マウスでの報告ではインスリンなど主に膵臓関連プロモーターを用いたものがあるだけで、腸管など他臓器での過剰発現モデルはない。ラット GPR40 プロモーター下にヒト GPR40 を過剰発現させた Tg ラットを作成済みであり、「遺伝性全身性機能亢進 (アゴニスト的) 状態」での表現型の解析が可能である。

### 4. 研究成果

GPR40 Tg ラットでの腹腔内糖負荷試験では、対照と比べ、糖負荷後の血糖は低下傾向であり、GPR40 が糖代謝調節に関与する可能性が示唆された。この検討では GPR40 Tg のコピー数が 3 コピー以下のものであり、今後により多いコピー数のラインの解析が進むことにより、そのメカニズムの詳細等が明らかになることが期待される。

これらのバックグラウンドストレインの SD ラットは創薬の非臨床試験で広く用いられているため、本研究で得られる知見は創薬に応用できる可能性が高いと考える。臨床応用に向け開発が進んでいた GPR40 アゴニスト (TAK-875 [fasiglifam]) は第三相試験まで至ったが肝障害の発生が懸念されたために最近に開発中止となった。肝障害の原因は不明であるが、GPR40 は申請者らの報告を含め肝臓では発現が報告されておらず、GPR40 によるものというよりは化合物が原因である可能性が考えられる。

また、国立循環器病研究センターバイオバンクにおけるヒトゲノム試料を用いた研究につい

て、研究倫理審査委員会への申請準備を行った。また、TAK-875 は武田薬品工業によって開発された GPR40 特異的アゴニストで市販されている。これを用いて、STC-1 (腸管インクレチン分泌細胞)、3T3L1 (脂肪細胞) などの細胞培養系にて、経時的に分泌 (腸管内分泌細胞) または脂肪分解・合成 (脂肪細胞) に関する遺伝子の発現の変化などを検討する目的で、培養系でも解析を行う必要があるが、この *in vitro* の実験系の準備も行った。

現在、GPR40 研究を継続して行っているのはほぼ申請者らのみであり、本研究および今後の知見から、GPR40 の創薬研究が発展し、新規の糖脂質代謝改善薬の開発へ展開することが期待される。

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<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)  | 備考 |
|-------|--|--|----|
| 研究分担者 | 細田 公則<br><br>(Kiminori Hosoda)<br><br>(40271598) | 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・部長<br><br><br><br>(84404)              |    |
| 研究分担者 | 孫 徹<br><br>(Son Cheol)<br><br>(60572287)         | 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・オープンイノベーションセンター・室長<br><br><br><br>(84404) |    |
| 研究分担者 | 横野 久士<br><br>(Hisashi Makino)<br><br>(80399609)  | 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・病院・医長<br><br><br><br>(84404)              |    |
| 研究分担者 | 野口 倫生<br><br>(Michio Noguchi)<br><br>(00432394)  | 国立研究開発法人国立循環器病研究センター・オープンイノベーションセンター・室長<br><br><br><br>(84404) |    |

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 |
|---------|---------|
|         |         |