

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17997

研究課題名(和文)膵細胞の異所性嗅覚受容体システムが個体糖代謝に及ぼす役割の解明

研究課題名(英文)Role of ectopic olfactory receptor system in pancreatic beta cells

研究代表者

宗像 佑一郎 (Munakata, Yuichiro)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：60747070

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)：研究代表者等は、膵細胞における嗅覚受容体という化学受容器を介したインスリン分泌増強機構とインクレチンシグナルとの相互作用を明らかとし、化合物制御によるグルコース応答性インスリン分泌(GSIS)促進治療に向けた検討を行った。ヘキサン酸アミルやフェニル酢酸アリルが膵細胞に発現するOLFR15の新たなリガンド候補になることを示した。さらに、ヘキサン酸アミルがGLP1によるインクレチンシグナルとの相互作用によりGSISを増強する可能性を示した。膵細胞に発現する嗅覚受容体は2型糖尿病の治療標的になりうることを示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嗅覚受容体を介したインスリン分泌促進機構は、既存の糖尿病薬と別経路を用い、活性化により高血糖時のみインスリン分泌を増強する。そのため、本研究で得られた結果と併せて、低血糖を起こさずGSISを増強することで糖尿病を治療する新規薬剤の開発につながる可能性が示唆された。インスリン分泌不全が2型糖尿病の成因として重要であることが知られている我が国においては特に有益な治療選択肢を増やすことにつながり得る成果と考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this project, we searched for candidate ligands of olfactory receptor (OR) expressed in pancreatic beta cells and examined whether OR-mediated glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) enhancement was potentiated by incretin signaling. Our present study raised the possibility that amyl hexanoate (AH) and allyl phenylacetate (AP) were new ligands of OLFR15 expressed in pancreatic beta cells. Furthermore, we elucidated that GSIS from pancreatic beta cells was significantly enhanced by the combination of AH and GLP1 compared with AH or GLP1. These results suggest that the OR system in pancreatic beta cells may constitute a potential therapeutic target for type 2 diabetes by enhancing insulin secretion.

研究分野：糖尿病

キーワード：インスリン分泌 糖尿病 嗅覚受容体 膵細胞

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国での糖尿病患者は316万6000人(2014年患者調査の概況(厚生労働省))と報告されておりその大半は2型糖尿病患者である。我が国の2型糖尿病患者は、欧米の様なインスリン抵抗性主体の病態と異なり、インスリン分泌不全がその成因として重要であることが、これまで多くの研究で示されてきた。研究代表者は、膵細胞に複数種の嗅覚受容体が発現していることを世界で初めて見出し、そのうちの一つOLFR15は、中鎖脂肪酸であるオクタン酸をリガンドとし、グルコース応答性インスリン分泌(GSIS)を促進すること、この機序はPLC-IP₃経路活性化であり、スルフォニル尿素やインクレチンなどの既存の糖尿病薬のシグナルとは別経路であることを解明した。このことから、研究代表者は「膵細胞に異所性に発現する嗅覚受容体が、化学受容器として食事由来の成分などを関知し、個体レベルでの代謝調節に重要な役割を果たしている」という新たな概念を提唱した(Muankata et al. *Sci Rep.* 2018)。

2. 研究の目的

本研究では、膵細胞に異所性に発現する嗅覚受容体ファミリーの糖代謝における役割を解明するとともに、治療応用へ向けた戦略開発につなげるために、嗅覚受容体という化学受容器を用いて、膵細胞が種々の物質を認識し糖代謝を調節する仕組みやインクレチンシグナルとの相互作用を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)OLFR15以外の嗅覚受容体のリガンドの同定とオクタン酸より強力なOLFR15のリガンドの検索

本研究に際しては、標的となる嗅覚受容体が7回膜貫通のG蛋白共役型受容体(GPCR)であるため、近年発表されたTGF shedding assay (*Nat Methods.* 9: 1021-9, 2012.) を利用しての解析を計画した。TGF shedding assay はほとんどのGPCRの活性化を検出可能であり、吸光度測定にて活性を評価でき、高精度、標的蛋白の一過性発現での測定が可能であるなどの利点がある。嗅覚受容体については、細胞膜上への発現に複数のシャペロンを要する(*Cell.* 119: 679-691, 2004.) ことが知られていたため、293T細胞に複数のシャペロンを発現させたHana3A細胞や研究代表者等がOLFR15等の嗅覚受容体が発現し機能していることを見出している膵細胞の細胞株であるMIN6細胞を用いた検討も実施した。

(2)インクレチンとの相互作用の検討

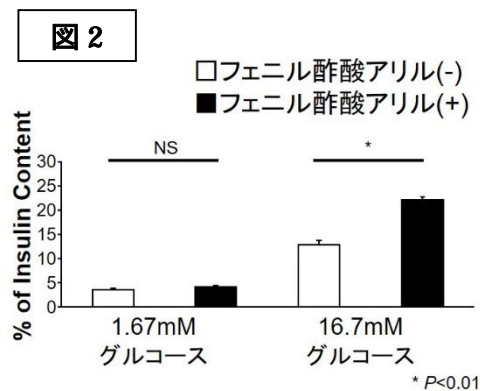
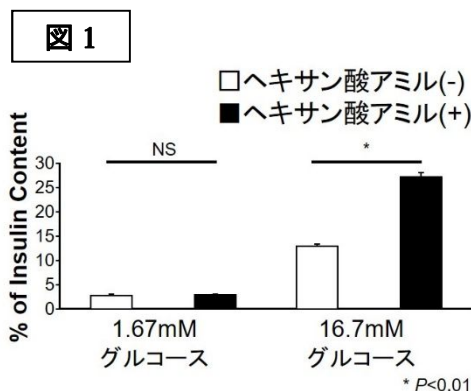
MIN6細胞に(1)で見出したリガンドとGLP1を処理した際のGSIS増強効果を検証した。

4. 研究成果

(1)OLFR15以外の嗅覚受容体のリガンドの同定とオクタン酸より強力なOLFR15のリガンドの検索

嗅覚受容体のリガンドのスクリーニングに利用するアッセイ系の確立のためにHana3A細胞やMIN6細胞にOLFR15を発現させTGF shedding assayを実施した。結果として、嗅覚受容体のリガンドをスクリーニングすることが出来るアッセイ系の確立には至らず、さらなる検討が必要であるものと考えられた。併行してOLFR15を介したGSIS増強物質としてこれまで明らかにしてきたオクタン酸以外の化合物の探索を進めた。これまでにオクタン酸以外のOLFR15のリガンドとして報告されていた化合物のうちヘキサ酸アミルとフェニル酢酸アリルに着目した(*Sci Signal* 2009; 2: ra9) これらの化合物をMIN6細胞に添加してインスリン分泌を検討した。その結果、ヘキサ酸アミルやフェニル酢酸アリルを添加したMIN6細胞ではオクタン酸と同様に高濃度のグルコース条件下においてのみインスリン分泌を増強し、その程度はオクタン酸と同等以上であることが明らかになった(図1、図2)。

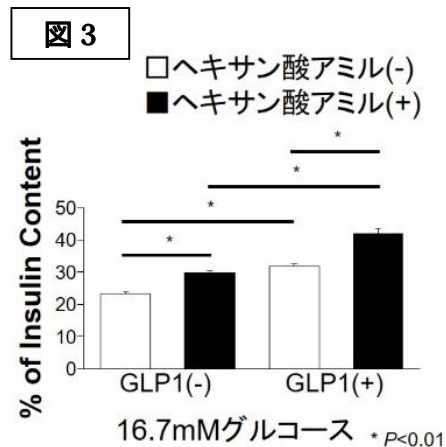
この結果は、ヘキサ酸アミルやフェニル酢酸アリルが膵細胞に発現するOLFR15の新たなリガンド候補になること、化合物制御によりGSIS増強効果をより高める可能性があること、を示唆するものである。



(2) インクレチンとの相互作用の検討

MING 細胞を高濃度グルコース条件下でヘキサ酸アミルと GLP1 で同時に刺激した際に認められるインスリン分泌は、ヘキサ酸アミル単独または GLP1 単独で刺激したときよりも増強されることが示された(図3)。この結果は、ヘキサ酸アミルによる嗅覚受容体シグナルが GLP1 によるインクレチンシグナルとの相互作用により GSIS をより増強することを示唆する。

これまでに研究代表者は嗅覚受容体シグナルを介したインスリン分泌が低濃度グルコース条件下では促進されないことを示しており、今回の成果と併せて、嗅覚受容体を介したインスリン分泌促進機構は、インクレチンシグナルと相互作用をもち、低血糖を起こさずにインスリン分泌を促進させる糖尿病の新しい治療標的になりうることを示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sawada Shojiro, Kodama Shinjiro, Tsuchiya Satoko, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Imoto Hirofumi, Tanaka Naoki, Naitoh Takeshi, Ishigaki Yasushi, Katagiri Hideki	4. 巻 10
2. 論文標題 Continuous glucose monitoring in patients with remission of type 2 diabetes after laparoscopic sleeve gastrectomy without or with duodenojejunal bypass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Obesity	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cob.12409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hosaka Shinichiro, Yamada Tetsuya, Takahashi Kei, Dan Takashi, Kaneko Keizo, Kodama Shinjiro, Asai Yoichiro, Munakata Yuichiro, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Kawana Yohei, Yamamoto Junpei, Izumi Tomohito, Sawada Shojiro, Imai Junta, Miyata Toshio, Katagiri Hideki	4. 巻 11
2. 論文標題 Inhibition of Plasminogen Activator Inhibitor-1 Activation Suppresses High Fat Diet-Induced Weight Gain via Alleviation of Hypothalamic Leptin Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2020.00943	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Sawada Shojiro, Tsuchiya Satoko, Kodama Shinjiro, Kurosawa Satoko, Endo Akira, Sugawara Hiroto, Hosaka Shinichiro, Kawana Yohei, Asai Yoichiro, Yamamoto Junpei, Munakata Yuichiro, Izumi Tomohito, Takahashi Kei, Kaneko Keizo, Imai Junta, Ito Azusa, Yasuda Masayuki, Kunikata Hiroshi, Nakazawa Toru, Katagiri Hideki	4. 巻 165
2. 論文標題 Vascular resistance of carotid and vertebral arteries is associated with retinal microcirculation measured by laser speckle flowgraphy in patients with type 2 diabetes mellitus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2020.108240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田 哲也, 宗像 佑一郎, 片桐 秀樹
2. 発表標題 嗅覚受容体は膵 細胞に発現しグルコース応答性インスリン分泌を促進する
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 宗像佑一郎, 山田哲也, 片桐秀樹	4. 発行年 2019年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 36
3. 書名 Diabetes Strategy(嗅覚受容体は膵 細胞に発現し, グルコース応答性インスリン分泌を促進する)(Vol.9 No.4)	

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

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
---------	---------