

平成22年 5月 31日現在

研究種目：若手研究 (B)
研究期間：2008 ~ 2009
課題番号：20790645
研究課題名 (和文) 脂肪毒性および耐糖能異常の新規治療標的としての G 蛋白共役型
—脂肪酸受容体の意義
研究課題名 (英文) A G protein-coupled receptor for fatty acids, GPR40: a novel
therapeutic target in treatment of adipotoxicity and glucose intolerance
研究代表者
富田 努 (TOMITA TSUTOMU)
京都大学・医学研究科・医員
研究者番号：50402897

研究成果の概要 (和文)：

新規の糖尿病治療創薬の上で注目されている GPR40 の糖尿病での意義を解明する目的で、肥満・糖尿病の肥満モデル、コレツキーラット (fa^k/fa^k) の膵島 (インスリン分泌を行う組織) で GPR40 遺伝子発現を検討した。 fa^k/fa^k で膵島にて 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。その機序にインスリン分泌調節との関連が指摘されている転写因子 Pdx-1 の発現低下、および組織脂質蓄積の関与が示唆され、糖尿病治療の標的として注目される。

研究成果の概要 (英文)：

To elucidate the regulation and pathophysiological implication of GPR40 in diabetes, we investigated GPR40 gene expression in pancreatic islets in Koletsky rats (fa^k/fa^k), a genetically obese model with a homozygous nonsense mutation in the ObR gene, as reported by us, and compared with lean littermates (+/+). In 14-week-old fa^k/fa^k with established glucose intolerance, GPR40 gene expression in pancreatic islets markedly (~1/3) decreased. Augmentation of insulin secretion in response to oleic acids was markedly attenuated in isolated islets from fa^k/fa^k . Tissue triglyceride levels were ~3-folds increased in pancreatic islets of fa^k/fa^k . Notably, mRNA expression of Pdx1, for which a putative binding domain is reported in the GPR40 promoter, was markedly (~1/2) decreased in pancreatic islets of fa^k/fa^k . Our results suggest a link between decreased GPR40 expression and dysregulated insulin secretion in pancreatic beta cells with lipid accumulation, where decreased Pdx1 gene expression may play a pivotal role in the regulation of GPR40 expression. The data also provide evidence for Koletsky rats as a suitable model for investigation of lipid accumulation and dysfunction in pancreatic beta cells.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2008年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2009年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：GPR40、G 蛋白共役型受容体、インスリン分泌、糖尿病、肥満、創薬

1. 研究開始当初の背景

GPR40(FFAR1)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齧歯類で報告されていたが、ヒトでの発現の詳細や意義は不明であった。我々はGPR40がヒト膵臓にて膵β細胞で高発現し(Tomita, T *et al.* BBRC 338:1788, 2005)、GPR40がヒトにおいてグルコース応答性インスリン分泌の調節に関与する可能性を示してきた(Tomita, T *et al.* Diabetologia 49:962, 2006)。しかし、GPR40の病態生理的意義は不明な点が多かった。

2. 研究の目的

GPR40の耐糖能異常・脂質異常症における病態生理的意義を解明する。

3. 研究の方法

コレツキーラット

コレツキーラット(左)と非肥満同胞(右)



コレツキーラットがレプチン受容体遺伝子ナンセンス変異のホモ接合体であることを報告 *Nat Genet* 14:130, 1996

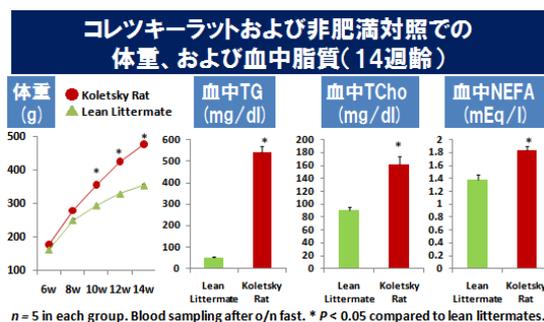
著明な肥満、高血糖、高脂血症を呈する

我々は、GPR40が内因性脂質(遊離脂肪酸)をリガンドとし、インスリン分泌増強に関与することから、インスリン分泌調節と脂質代謝でのGPR40の病態生理的意義の可能性に注目し、我々が遺伝子異常を解明したレプチン受容体欠損-遺伝性肥満モデル(Nat Genet 14:130, 1996)コレツキーラット(*fa^h/fa^h*)にて、膵島でのGPR40遺伝子発現を

TaqMan PCRにて定量した。また、その発現調節メカニズムを検討した。

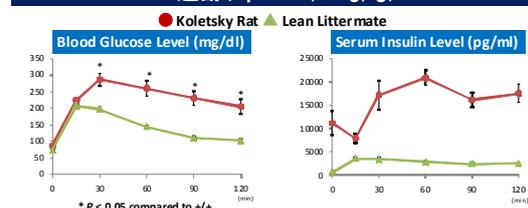
4. 研究成果

著明な肥満および早期インスリン分泌調節異常を呈する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。



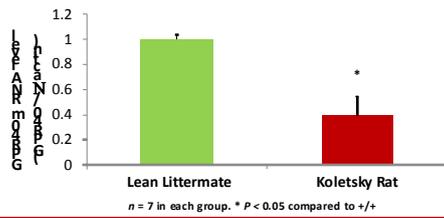
肥満、著明な血中脂質の上昇

コレツキーラットおよび非肥満対照での耐糖能試験 14週齢, ipGTT (2mg/g)



2時間血糖値が上昇：耐糖能異常を示唆
空腹時インスリンが上昇：インスリン抵抗性を示唆
15分インスリン値が低下：インスリン初期分泌低下を示唆

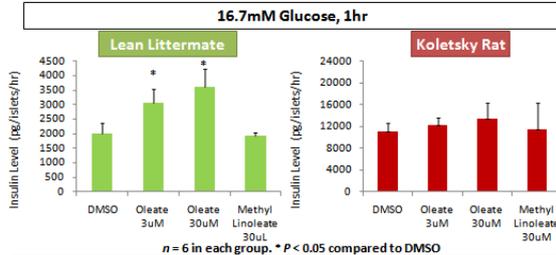
コレツキーマウスおよび非肥満対照の膵島での GPR40 mRNA 発現 (14週齢)



14週齢のコレツキーマウスの膵島でGPR40 mRNAレベルは非肥満対照と比べ約1/3に低下

また、14 週齢 *fa^{kl}fa^k* の単離膵島にて、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、+/+の約 1/3 に著明に低下していた。

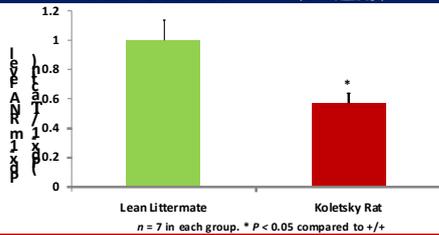
コレツキーマウスおよび非肥満対照の膵島での脂肪酸によるインスリン分泌増強 (14週齢)



脂肪酸によるインスリン分泌増強の減弱: GPR40遺伝子発現の低下の機能的意義を示唆

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、*fa^{kl}fa^k* の膵島で+/+の約 1/2 に低下していたことから、膵島での GPR40 遺伝子低下に *Pdx1* 遺伝子発現低下が関与する可能性が示された。

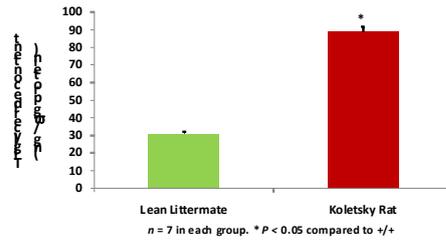
コレツキーマウスおよび非肥満同胞の膵島での Pdx-1 mRNA レベル (14週齢)



PDX-1遺伝子発現低下と GPR40遺伝子発現の低下との関連が示唆される

fa^{kl}fa^k がレプチン受容体欠損動物であることから組織脂質蓄積が予想されたため、膵島での中性脂肪レベルを定量したところ、*fa^{kl}fa^k* にて+/+の約 3 倍に著明に増加していた。組織脂質蓄積と *Pdx-1* 遺伝子発現低下はこれまでも指摘されており、本モデルにおける発現低下との関連が示唆された。

コレツキーマウスおよび非肥満同胞の膵島での組織中性脂肪レベル (14週齢)



組織脂質蓄積とPDX-1遺伝子発現低下の関連を示唆

以上から、脂質蓄積のある膵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、膵島での 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、コレツキーマウスが脂肪蓄積と膵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。今後、本研究の見解に基づいた糖尿病での治療創薬の発展が期待される。

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 1 件)

1. 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

[学会発表] (計 5 件)

1. 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 Koletskey rats. 14th International Congress of Endocrinology (ICE2010) 2010年3月28日, Kyoto, Japan
2. 冨田努, 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年4月23日, 群馬
3. 冨田努, 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年10月17-18日, 大分

4. 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年5月22-24日, 東京

5. 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Koletsyラットの
膝島でのGPR40遺伝子発現 -

第81回日本内分泌学会学術総会

2008年5月16-18日, 青森

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富田 努 (TOMITA TSUTOMU)

京都大学・大学院医学研究科・医員

研究者番号: 50402897