

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 4月30日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23659466

研究課題名（和文） 膵β細胞に発現する甘味受容体を標的とした新たな創薬戦略の確立

研究課題名（英文） Sweet Taste Receptor Expressed in Pancreatic β-cells: Potential Therapeutic Target

研究代表者

小島 至 (KOJIMA ITARU)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：60143492

研究成果の概要（和文）：膵β細胞に発現する甘味受容体は、グルコース、フルクトースなどの糖類だけでなく、様々な構造の甘味料により活性化される。申請者のこれでの検討から、これら甘味料が受容体の異なる部位に結合し、しかも異なる作用機構でインスリン分泌を促進することが判明している。そこで、スクラロース、アセスルファーム K、サッカリン、グリチルリチンという4種類の甘味物質を用い、その作用および細胞内シグナルを解析し、どの物質の結合部位が創薬の標的となるかを解析した。その結果、スクラロースがもっとも効率よくインスリン分泌を刺激し、かつβ細胞保護作用をもつことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The sweet taste receptor expressed in pancreatic β-cells is activated by sugars including glucose and fructose. It is also activated by various sweeteners. We showed that sweeteners bind to different portion of the receptor and generate different sets of intracellular messengers. In the present study, we examined the effects of four sweeteners, sucralose, acesulfame K, saccharin and glycyrrhizin, in β-cells and determined which ligand is useful as a stimulant of insulin secretion. The results show that sucralose effectively stimulates insulin secretion and also protects β-cells from apoptosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：内分泌代謝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：インスリン、β細胞、甘味受容体、アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

甘味受容体は、舌の味蕾に発現し、糖等の甘味物質を認識する味覚受容体である。その分

子実態は、CタイプのG蛋白共役型受容体であるT1R2とT1R3のヘテロ二量体である。近年、味蕾以外の組織に甘味受容体が発現する

ことが明らかになって来たが、2009年に申請者らは膵β細胞に甘味受容体が発現していること、その刺激によりインスリン分泌が刺激されることを報告した。その後の研究により、膵β細胞の甘味受容体を刺激すると細胞内Ca²⁺やcAMPが増加すること、また異なる種類の甘味物質の投与により、異なるパターンの多様な細胞内シグナルが産生されることも明らかになっていた。

2. 研究の目的

甘味受容体を標的として、有効かつ安全なインスリン分泌刺激薬を作製する基礎となる情報を得ること、具体的にはどのような甘味物質、甘味受容体のどの結合部位の刺激により有効かつ安全な作用を発揮できるかを明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

MIN6細胞をモデル細胞として、代表的な甘味物質であるスクラロース、アセスルファームK、サッカリン、グリチルリチンの4種類の甘味料を投与し、それらの甘味受容体アゴニストにより惹起されるインスリン分泌促進作用、細胞死抑制作用を比較検討する。これにより、どのような結合物質、どのような部位に結合するアゴニストが創薬の対象になりうるかを明らかにする。

4. 研究成果

まず、膵β細胞に発現する甘味受容体サブユニットについて検討を行った。その結果、定量的PCRによりT1R2の発現はT1R3に比べて極端に低いこと、また蛋白レベルで見ると

T1R3の発現は十分量あるもののT1R2の発現は検出感度以下であることが明らかになり、膵β細胞ではT1R3のホモダイマーが機能している可能性が考えられた。さらにT1R2、T1R3の発現をshRNAによりノックダウンすると、T1R3ノックダウンでは甘味物質の作用が抑制されるものの、T1R2のノックダウンは何の効果ももたらさないことが明らかになった。これらの結果は、膵β細胞においてはT1R3のホモダイマーが甘味受容体として機能していることを強く示唆している。次に、スクラロース、アセスルファームK、サッカリン、グリチルリチンの4種類の甘味料を用い、これらにより惹起される細胞内シグナル、具体的には細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_c)および細胞内サイクリックAMP濃度([cAMP]_c)の変化をモニターした。その結果、スクラロース、アセスルファームK、サッカリン、グリチルリチンの4種類の甘味物質がそれぞれ異なる細胞内シグナルを産生することが明らかになった。例えばスクラロースとアセスルファームKはCa²⁺とcAMPの両者を増加させるが両者のCa²⁺動員機構は異なり、活性化されるG蛋白やイオンチャネルは異なっていた。一方、サッカリンはcAMPのみを増加させCa²⁺には影響しないのに対して、グリチルリチンはCa²⁺のみを増加させ、cAMPには影響を与えなかった。このように産生する細胞内シグナルは異なっていたが、4種類の甘味料はいずれもインスリン分泌を増加させた。次にMIN6細胞にトルブタマイドやツニカマイシンを投与して細胞死を誘導し、このとき同時に甘味物質を添加して細胞死が抑制できるかを検討した。その結果、4種類の甘味料

のうち、スクラロースとサッカリンはトルブタマイドによる細胞死の抑制作用を示した。またスクラロースとサッカリンはツニカマイシンにより惹起される細胞死に対しても抑制効果を示した。これらの結果から、スクラロースが分泌刺激能と細胞死抑制能をバランスよく示し、この結合部位に作用する化合物が有用と考えられた。既に述べたように、膵β細胞においては T1R3 がホモダイマーを形成して甘味受容体を校正しているものと考えられる。現時点ではスクラロースが T1R3 のどこに結合するかは明らかにされていないので、今後その結合部位を同定するとともに、そこに結合する物質を探索して行きたい。

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 3 件)

- ① Nakagawa Y, Nagasawa M, Mogami H, Lohse M, Ninomiya Y, Kojima I. (2013) Multimodal function of the sweet taste receptor expressed in pancreatic b-cells: generation of multiple patterns of intracellular signals by sweet agonists. *Endocr J* (in press) (査読あり)
- ② Masubuchi Y, Nakagawa Y, Ma J, Sasaki S, Kitamura T, Yamamoto Y, Kurose H, Kojima I., Shibata H. (2012) Novel regulatory function of sweet taste-sensing receptor in adipogenic differentiation of 3T3-L1 cells.

PLoS ONE 8:e54500 (査読あり)

- ③ Kojima I., Nakagawa Y (2011) The role of the sweet taste receptor in enteroendocrine cells and pancreatic b-cells. *Diabetes Metab J* 35:451-457. (査読あり)

[学会発表] (計 7 件)

- ① 中川祐子、長澤雅裕、最上秀夫、小島至
グルコース作用における甘味受容体の関与：代謝経路との連関
第 5 6 回日本糖尿病学会総会
2013. 5. 15 (熊本市)
- ② 大津喜晃、中川祐子、荒川浩一、小島至
GLP-1 産生細胞における甘味受容体シグナル産生機構：アセスルファーム K の細胞内 Ca²⁺低下作用の解析
第 5 6 回日本糖尿病学会総会
2013. 5. 15 (熊本市)
- ③ 増淵洋祐、中川祐子、馬金輝、長澤雅裕、小島至、柴田宏
甘味刺激による Gs 活性化は微小管脱重合と Rho 活性化を介して脂肪分化を抑制する
第 5 6 回日本糖尿病学会総会
2013. 5. 15 (熊本市)
- ④ Kojima I.
Multimodal function of the sweet taste receptor expressed in pancreatic b-cells.
The 10th International Symposium on Molecular and Neural Mechanism of taste and Olfactory Perception.
2012. 11. 3 九州大学 (福岡市)

- ⑤ 中川祐子、長澤雅裕、最上秀夫、小島至
膵β細胞におけるグルコース作用：代謝
に依存しない cAMP シグナル産生経路の
解明
第55回日本糖尿病学会総会
2012.5.17 パシフィコ横浜（横浜市）
- ⑥ 大津義晃、中川祐子、小島至
GLP1-1 分泌細胞 HuTu-80 における甘味
受容体の機能解析
第55回日本糖尿病学会総会
2012.5.17 パシフィコ横浜（横浜市）
- ⑦ 増淵洋祐、中川祐子、馬金輝、小島至、
柴田宏
甘味受容体による脂肪細胞分化抑制の
シグナル機構
第55回日本糖尿病学会総会
2012.5.17 パシフィコ横浜（横浜市）

〔図書〕（計2件）

- ① 小島至、中川祐子（2012）膵β細胞に
発現する甘味受容体とインスリン分泌
内分泌代謝糖尿病 34:364-370.
- ② 小島至、中川祐子（2011）膵β細胞に
発現する甘味受容体
実験医学 29:1215-1219.

〔産業財産権〕

- 出願状況（計0件）
○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.imcr.gunma-u.ac.jp/lab/celph>
y/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 至 (KOJIMA ITARU)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：60143492