

長寿医療研究開発費 2023年度 総括研究報告（総合報告）

UDP グルコースを分子基盤とした加齢に伴う糖代謝不良高齢者の機能性食品・治療薬剤
の開発（21-4）

主任研究者 今井 剛 国立長寿医療研究センター ケミカルバイオロジー研究部長

研究要旨

糖代謝不良の高齢者の健康寿命延伸法の開発ため、主に新しいインスリン分泌促進法の開発を試みた（長寿医療研究開発費 28-25 と 19-27）。強力なインスリン分泌促進物質の一つであるアルギニンによるインスリン分泌促進機構の解明をおこなった。準必須アミノ酸の一つであるアルギニンの標的因子（いわゆる受容体）を複数同定した。UGGT1*とGCK*である。そしてアルギニンの機能を新たに発見した。また、興味深いことにUGGT1 も GCK も優性遺伝子多型が若年性糖尿病患者（MODY*）にて同定した。特にGCK のタンパク質分解を誘導するスイッチ分子としてUDP グルコースを同定した。被分解タンパク質のGCK 変異体の中から野生体GCK-WT より分解される変異体と、分解されない変異体を同定した。最終的には、糖代謝不良高齢者に対する機能性食品・治療薬剤の開発である。高齢者であるため、安全性が優先される。

*GCK ; glucokinase、グルコキナーゼ

*UGGT1 ; UDP-Glucose Glycoprotein Glucosyltransferase 1

*MODY ; Maturity-onset diabetes of the young

主任研究者

今井 剛 国立長寿医療研究センター ケミカルバイオロジー研究部長

分担研究者

半田 宏 東京医科大学 ケミカルバイオロジー研究講座 特任教授

研究期間 2021年4月1日～2024年3月31日

A. 研究目的

高齢者は糖代謝が不良になることが知られている。日本人全体の平均寿命から糖尿病患者の平均寿命を差し引くと男性・女性ともに約 10 年程度低下が見られるため、糖代謝を良好すると寿命が 10 年程度伸びることが推測される。

2020 年 6 月 5 日、厚生労働省が「令和元年（2019）人口動態統計月報年計（概数）の結果」、老衰は 3 位で 9%程度最近増加傾向である。すなわち、健康寿命を延伸することが効果的である。科学的根拠に基づいた健康寿命延伸法の一つはカロリー制限であり、カロリー制限の第一義は糖代謝良好と考えられている。

そのため、インスリン分泌促進機構の解明をおこなってきた（長寿医療研究開発費 28-25 と 19-27）。まずは最も強力なインスリン分泌促進物質の一つであるアルギニンの標的因子（いわゆる受容体）を UGGT1 と GCK と二つ同定した。

特に GCK は糖によるインスリン分泌制御に重要であることが知られている。その遺伝子多型は若年性糖尿病 MODY2 である。反対の新生児持続性高インスリン血症性低血糖症(PHHI= persistent hyperinsulinemic hypoglycemia in infancy)にも GCK 遺伝子多型が知られている。

GCK は絶食時に UDP グルコースによりタンパク質分解を受けることを証明した（業績論文参照）。そのため、上記 GCK 遺伝子多型変異タンパク質の UDP グルコースによるタンパク質分解活性を測定し、解析したい。

B. 研究方法

B1) GCK 変異タンパク質のグルコース結合活性の測定

M235T, E256K, E442*, G264S, G261R, S336W, G193W, L386P, G162R, R43C, T205W を作成した。上記変異体をグルコース固定化ナノビーズに結合させた。

B2) UDP グルコースによる GCK 変異タンパク質の分解活性

上記変異体に UDP グルコースを投与して分解活性を測定した。

(倫理面への配慮)

患者・動物・組み換え遺伝子等を用いないため倫理指針等は存在しない。しかし、有機溶媒を用いるため、実験場の安全面は気をつけ、ドラフト内でおこなうようにしている。また、その有機溶媒廃棄も廃棄業者に委託している。

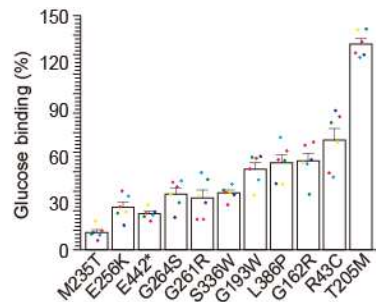
C. 研究結果

C1) GCK 変異体の作成

M235T, E256K, E442*, G264S, G261R, S336W, G193W, L386P, G162R, R43C, T205W を作成した。

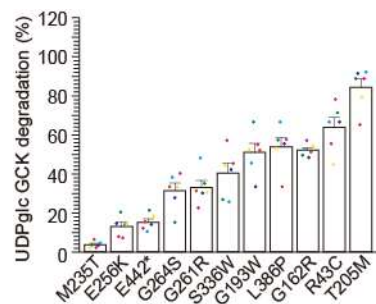
C2) GCK 変異体のグルコース結合性

上記変異体をグルコース固定化ナノビーズに結合させた。その結合活性を測定した。



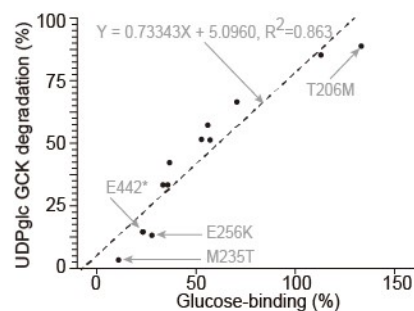
C3) GCK 変異体の UDP グルコース誘導性タンパク質分解活性

上記変異体に UDP グルコースを投与して分解活性を測定した。その分解活性を測定した。



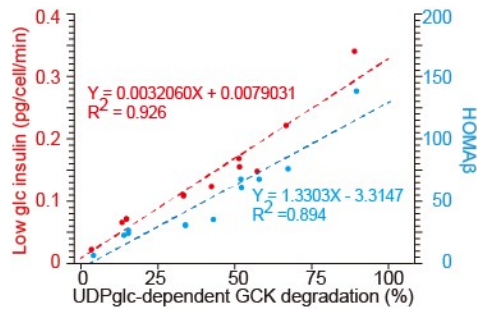
C4) グルコース結合活性と UDP グルコース依存的タンパク質分解活性

グルコース結合活性と UDP グルコース分解活性を比べた。高い相関性 $R^2=0.863$ を得た。



C5) UDP グルコース依存的 GCK タンパク質分解活性と HOMA_b

上記変異の HOMA_b と UDP グルコース分解活性を比較した。高い相関性 $R^2=0.894$ を得た。



D. 考察と結論

D1) MODY2 と PHHI

興味深いことにインスリン分泌能の高い PHHI 変異 A456V と低い MODY2 変異 E256K/M235T 等はグルコース結合性・UDP グルコース依存的タンパク質分解・インスリン分泌が逆相関を示した。(下図参照)

D2) MODY2 患者における UDP グルコース誘導性 GCK タンパク質分解異常

MODY2 変異において UDP グルコース分解と *in vitro* および患者のインスリン分泌能 (HOMAβ) は綺麗な正の相関を示した (上図)。

結論

D3) 空腹時に誘導される UDP グルコース依存的 GCK 分解機構は、GCKWT 健常人において、空腹時に GCK を分解し、インスリン分泌を低下させるのに、必要である。

D4) PHHI 患者においては、A456V は UDP グルコースにより敏感であるため、空腹時にはより分解される可能性が高い。

D5) MODY2 患者においては M235T 等は UDP グルコースに鈍感・非感受的であり、空腹時には分解されないため、インスリン分泌はより低い。

D6) ヒト膵臓において空腹時に起きる UDP グルコース依存的 GCK 分解は極めて重要であり、GCK 遺伝子多型により同分解異常が起きると MODY ないしは PHHI となる。

Patients	MODY2	Healthy	PHHI
GCK gene	E256K	WT	A456V
Insulin secretion			
β -cells and <i>in vitro</i>			
Glucose-binding			
UDP-glucose degradation			
Vehicle			
↓			
UDP-glucose			

E. 健康危険情報

有機溶媒を用いるため、実験場の安全面は気をつけ、ドラフト内でおこなうようにしている。また、その有機溶媒廃棄も廃棄業者に委託している。

F. 研究発表

1. 論文発表

2023 年度

1) Cho J, Horikawa Y, Oiwa Y, Hoshomichi K, Yabe D, Imai T. Glucokinase Variant Proteins Are Resistant to Fasting-Induced Uridine Diphosphate Glucose-Dependent Degradation in Maturity-Onset Diabetes of the Young Type 2 Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24,15842; IF=6.208 <https://doi.org/10.3390/ijms242115842>

2022 年度

1) Cho J, Tsugawa Y, and Imai T*. R1526 residue in arginine/proinsulin binding domain of UGGT1 is involved in proinsulin binding. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 615: 131-135, IF3.575 (2022). PMID: 32423812, PMCID: PMC7863631, NIHMSID: NIHMS1661560, DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.05.060, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006291X22007653> NIH June30/2021 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7863631/>

