

健康寿命延伸物質アルギニンの新規受容体 2 の機能解析 (19-27)

主任研究者 今井剛 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部長 (役職名)

研究要旨

人は加齢により糖代謝異常が見られる。特に我々日本人は、インスリン分泌の減少が主な要因である。(欧米人はインスリン抵抗性が多く見られる) よって我が国における健康寿命延伸法はインスリン分泌促進しかない(インスリン抵抗性改善は欧米人用である)。

また、科学的根拠に基づいた健康寿命延伸法はカロリー制限が唯一の存在であると考えられている。カロリー制限の第一義は糖代謝改善であることが知られている。

糖代謝改善の反対である糖代謝不良はいわゆる糖尿病である。糖尿病はその予備軍を含めて日本人の数百万人と言われ、現代の国民病である。また、糖尿病患者の平均寿命は男 71.4 歳・女 75.1 歳である。日本人の平均寿命は男 81.25 歳・女 87.32 歳のため、糖尿病(糖代謝不良)により男 9.85 歳・女 12.22 歳寿命が短くなることが予想される。すなわち、糖代謝改善(日本人においてはインスリン抵抗性改善ではなく、インスリン分泌促進)により逆に男女ともに約 10 年程度寿命が長くなることも予想される。

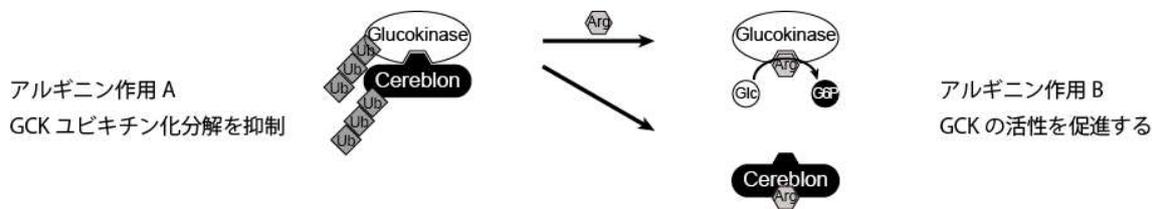
よって、主には以上の 3 点より日本の超高齢化社会において、インスリンを増やすことは切望されている。それにより、男・女ともに平均寿命が約 10 年延伸する可能性がある。

インスリン分泌を促進する物質をインスリン分泌促進物質 (insulin secretagogues) という。その中で最も強力なインスリン分泌促進機能を有するものの一つは準必須アミノ酸の一つであるアルギニンである。磁性ナノビーズ (いわゆる半田ビーズ) にスパーサーを介してアルギニンを固定化したアルギニン固定化磁性ナノビーズを作成し、インスリン分泌細胞抽出液よりアルギニンの受容体を 2 種類同定した。一つは小胞体に存在し、UGGT1 であった。これは前回の研究開発費にて解析を行い、3 報の責任著者論文を得ている。また、現在もう一報を作成中である。もう一つのアルギニン受容体は本提案で、グルコキナーゼである。

アルギニンがグルコキナーゼに結合することにより、何故インスリン分泌を促進するかを同定しつつある。少なくとも、2 種類の作用 (A および B) が存在する。

作用 A) アルギニンが結合しないとグルコキナーゼはユビキチン化され、タンパク質分解が起きている。→すなわちアルギニンはグルコキナーゼの分解を抑える作用がある。

作用 B) アルギニンが結合することによりグルコキナーゼのリン酸化活性が上昇する



主任研究者

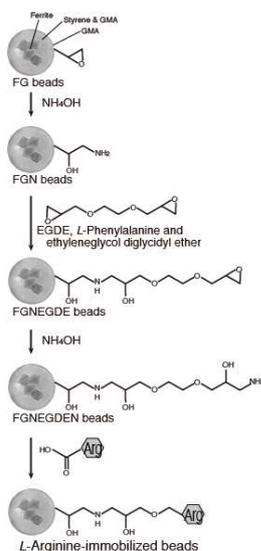
今井 剛 国立長寿医療研究センター 老化制御研究部長 (役職名)

分担研究者

半田 宏 東京医科大学 特任教授 (役職名)

A. 研究目的

約 10 年の健康寿命延伸法を開発するにあたり、インスリン分泌促進物質アルギニンの標的因子 (いわゆる受容体) の単離を行ってきた。分担研究者半田らの開発した磁性ナノビーズ (いわゆる半田ビーズ) に、スパーサーを介してアルギニンを結合させた。そこに β 細胞抽出液を結合させ、アルギニン結合因子を精製し、NCGG LC/MS を用いて 3 種類以上のアルギニン結合因子を同定した。



本提案では 2 番目の因子グルコキナーゼである。即ち、アルギニンがグルコキナーゼに結合すると何故インスリン分泌が強力に促進されるかを明らかにすることを目的とする。

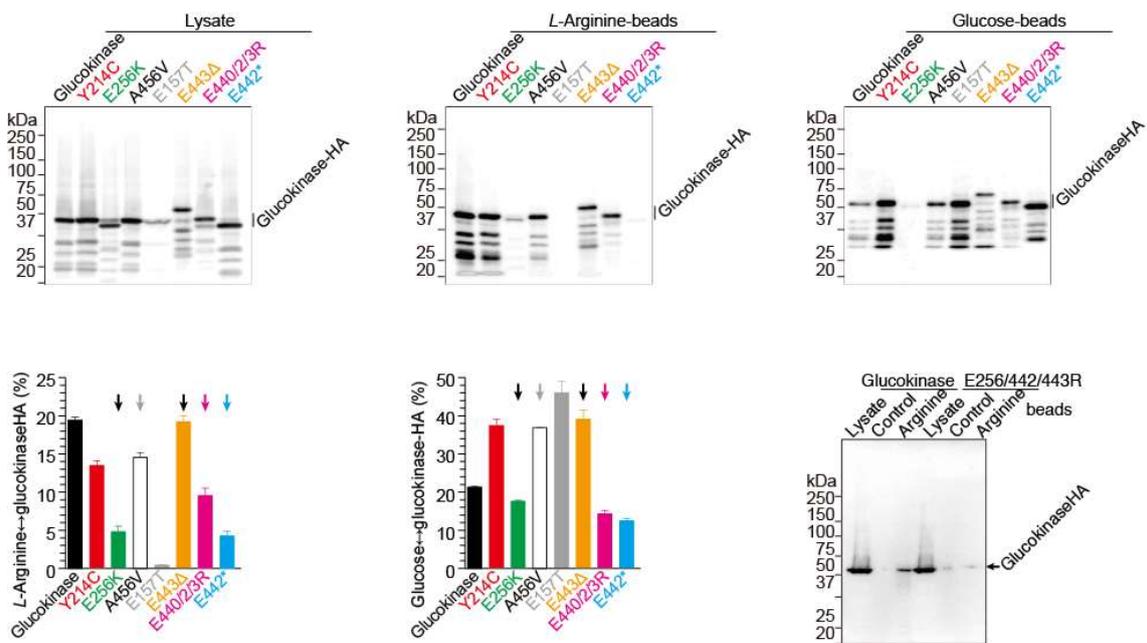
B. 研究方法

上記のアルギニン固定化磁性ナノビーズを用いて同定したグルコキナーゼを分子生物学的手法を用いて、遺伝子変異体を複数作成した。また、グルコキナーゼはグルコースをリン酸化する酵素であるため、アルギニンをグルコースに変えたグルコース固定化磁性ナノビーズも作成した。そして、グルコキナーゼ変異体群を各々アルギニン、グルコースとの結合を解析した。

(倫理面への配慮)

ヒト患者・健常人、マウスは用いていない。遺伝子組み換え実験は所属機関で承認済み。

C. 研究結果



いくつかの変異体の結果を上図に示す。分担研究者らのデータを踏まえて、グルコキナーゼ内のアルギニン結合部位は **E256** (グルタミン酸) と **E442** と **E443** であった。そのため、**E256/E442/E443** の3アミノ酸を **R** (アルギニン) へと3重変異させたものはアルギニンへの結合性が大きく損なわれた (右下図)。

よって、グルコキナーゼにおいて **E256** と **E442** と **E443** 残基がアルギニンとの結合に重要であることが判明した。

D. 考察と結論

結果でグルコキナーゼにおいて3つのグルタミン酸残基 (E256/E442/E443) がアルギニンとの結合に重要であることを示した。

興味深いことに3残基ともに変異体が MODY (若年性糖尿病) であることである。即ち、アルギニンとグルコキナーゼの結合が MODY の原因になることを示している。

また、その一つの MODY 変異である E256K 患者はアルギニン抵抗性インスリン分泌不全であった。

Wajngot, A., Alvarsson, M., Glaser, A., Efendic, S., Luthman, H., Grill, V., Glucose potentiation of arginine-induced insulin secretion is impaired in subjects with a glucokinase Glu256Lys mutation, *Diabetes* 43, 1402-1406 (1994). doi: 10.2337/diab.43.12.1402.

よって、この考察は正しいことが証明された (E256 に関して)。

E. 健康危険情報

該当なし。

※班のすべての健康危険情報について記載すること。このため、分担項目に係る情報であっても分担研究報告ではなく、こちらに記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) [Cho J](#), [Hiramoto M](#), Masaike Y, Sakamoto S, Imai Y, Imai Y, Handa H, [Imai T](#)*. UGGT1 retains proinsulin in the endoplasmic reticulum in an arginine dependent manner, *Biochem Biophys Res Commun* in press

2) [Tsugawa Y](#), Natori M, Handa H, and [Imai T](#)*. Estradiol accelerates liver regeneration through estrogen receptor α . *Clinical and Experimental Gastroenterology* Volume12, 331-336, 2019

3) [Tsugawa Y](#), Handa H, and [Imai T](#)*. Arginine induces IGF-1 secretion from the endoplasmic reticulum. *Biochem Biophys Res Commun* Volume 514, Issue 4, 5 July 2019, Pages 1128-1132

4) Ando H, Sato T, Ito T, Yamamoto J, Sakamoto S, Nitta N, Asatsuma T, Shimizu N, Mizushima R, Aoki I, [Imai T](#), Yamaguchi Y, Berk AJ, Handa H. Cereblon control of zebrafish brain size by regulation of neural stem cell proliferation. *iScience* Vol 15, May

2019, p95-108

5) **Tsugawa Y**, Hiramoto M, **Imai T***. Estrogen induces Estrogen Receptor α expression and hepatocyte proliferation in the late pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun* Volume 511, Issue 3, 9 April 2019, Pages 592-596.

***老化制御**

2. 学会発表

1) 1. 新たに同定したアルギニンシグナル、第5回 NCC-TMC セミナー ケミカルバイオロジーが明らかにする生命の仕組み、2019年11月7日国立がん研究センター・鶴岡連携研究拠点

2) 2. 若年性糖尿病原因因子の鍵と鍵穴 創薬研究会 2017、10月28日、東京工業大学 大岡山キャンパス 緑が丘6号館1階 緑が丘ホール

3) 3. 内分泌・代謝学 共同利用・共同研究開発拠点セミナー 今井剛 β 細胞再生活性を持った新規作用機序インスリン分泌促進剤及び β 細胞再生因子-受容体の同定 群馬大学生体調節研究所 平成28年6月10日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

※予定を含めて記載すること。該当がない場合には「なし」と記載すること。