

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 ケミカルバイオロジー研究部長

研究要旨

科学的根拠に基づいた健康寿命延伸法の開発のために、「カロリー制限」「日本人の糖尿病患者の平均寿命」「加齢に伴う糖代謝不良」これら三つの事例から、そのため、(日本人)高齢者の糖代謝を良好にすることは抗加齢・健康寿命の延伸につながることが推測された。糖代謝改善には主に2つの側面が存在する。一つはインスリン感受性を高めること。もう一つはインスリン分泌を高めることである。インスリン感受性を高める薬剤は存在しているが(チアゾリジン)、肝機能障害、浮腫、心不全、肝障害、体重増加等の重篤な副作用が多く報告されており、本研究では行わなかった。インスリン分泌促進剤は低血糖(効果があられすぎる)、があるため、効きすぎないインスリン分泌促進が良いと考えた。そのため、食用としてのアミノ酸の一つであるアルギニンはもちろん重篤な副作用はなく、インスリン分泌促進活性はよく知られている。しかし、その作用機序は分かっていない。そのため、アルギニンのインスリン分泌促進機構の解明→アルギニン模倣薬としての副作用の少ないインスリン促進剤(機能性食品)の同定を試みた。

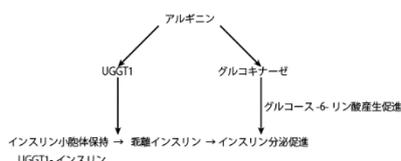


図1 二つのアルギニン受容体(UGGT1およびGCK)によるインスリン分泌促進機構  
前長寿医療研究開発費(28-25)にてUGGT1をまた、本研究(19-27)にてGCKを同定し、  
そのメカニズムの同定に成功した。(趙ら2020 2報等)

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 特任教授

## A. 研究目的

健康寿命延伸法の開発のため、我々はまず、三つの事例を参考にした。

- ・一つは科学的根拠に基づいた唯一の健康寿命延伸法である「カロリー制限」である。カロリー制限は第一義的に糖代謝改善であると考えられている。
- ・二つ目は糖尿病患者の平均寿命は日本人全体と比較して、男女ともに約 10 年短い。よってこれも糖代謝を改善すれば健康寿命が約 10 年長くなると予想される。
- ・我々の 2010 年査読付き日本語学術誌論文 2 報をはじめとした、多くの日本人高齢者研究から、加齢に伴い糖代謝不良へ平均値が上昇する。

そのため、(日本人) 高齢者の糖代謝を良好にすることは抗加齢・健康寿命の延伸につながる事が推測された。

糖代謝改善には主に 2 つの側面が存在する。一つはインスリン感受性を高めること(a)。もう一つはインスリン分泌を高めること(b)である。

(a)インスリン感受性を高める薬剤としてチアゾリジン系薬剤が知られているが、重篤な副作用(肝機能障害、浮腫、心不全、肝障害、体重増加)が知られており、新規薬剤の申請すらないため、高齢者全般への広い応用へは問題が多すぎる。そのためインスリン感受性を高めるアプローチは行わないことにした。

(b)我々、日本人は欧米白人と比べ、肥満が少ないが、インスリン分泌が極めて少ない民族の一つである。そのため、日本人用の健康寿命延伸法開発のためにインスリン分泌促進機構の解明をはじめた。また、インスリン注射は今までの長い歴史・効果から極めて、望ましいが、より多くの高齢者に注射を毎日行うことは望ましくないため、内因性のインスリン分泌を促進させることを考えた。膵臓の疲弊の概念も存在するが、長い糖尿病患者への糖負荷ではインスリン分泌は促進されないが、アルギニン負荷ではインスリン分泌が促進されるという報告が複数存在したため、経口アルギニン模倣剤を最終ゴールとして考えている。

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注目した。もちろんアルギニンの副作用は少なく、また、分泌促進メカニズムは不明であった。

## B. 研究方法

アルギニン固定化磁性ナノビーズ作成(東京医科大)

分担研究者半田らの開発した磁性ナノビーズにアルギニンを固定化したアルギニン固定化ナノビーズはアルギニン標的因子を精製・同定に成功してきた(平本ら *Biomed Chromatogr* 24 (6):606-612, 2010)。アルギニン標的因子の共役因子の精製・同定にも成功した(梅田ら *J Biosci Med* 1(3):5-10, 2013)。

アルギニン標的因子の解析(NCGG)

遺伝子組み換え技術を用いて UGGT1, insulin, GCK の遺伝子改変を行なった。

(倫理面への配慮)

NCGG、東京医科大において、共にヒト患者、動物実験は行なっていない。遺伝子組換えはNCGGのみ。委員会に承認を得ている。

### C. 研究結果

さらには、インスリン分泌に関わるアルギニン標的因子はインスリンを小胞体にて留めることを示した(梅田ら **BBRC 466(4):717-722, 2015**)。そのため、アルギニンのインスリン分泌促進に関わる標的因子(いわゆる受容体)は小胞体に存在するため、インスリン分泌β細胞株 NIT-1 をオクチルグルコシドにて溶解した細胞抽出液を作成し、アルギニン標的因子の精製・同定に成功した(趙ら **BBRC 527:668~675, 2020**)。さらには準必須アミノ酸の一つであるアルギニンは主に食事から摂取するため、いわゆる絶食・空腹時には体内・膵臓内のアルギニンは低濃度であり、食後より高濃度となる。

若年性糖尿病(MODY)は遺伝子多型により誘発する遺伝的糖尿病である。興味深いことに前述のインスリン分泌に関わるアルギニン標的因子(UGGT1 および GCK)、およびインスリン自身の遺伝子組み換え変異体を作成し解析したところ、全ての3遺伝子変異の中で重要な変異は全て(日本人)MODY患者より得られた遺伝子多型であった。

- ・インスリン→R46Q と C43G と C109R
- ・GCK→E254R
- ・UGGT1→R1526C

また、さらにはGCKに関してアルギニン結合によりCRBNによるユビキチン化・タンパク質分解を阻害することも判明した。また、CRBNも同様に第3のアルギニン標的因子であった。さらに、CRBN遺伝子多型もMODY患者より検出された。

- ・CRBN→W415X と W243X と W224X と W183X

### D. 考察と結論

上記の結果よりアルギニンによるインスリン分泌促進機構は若年性糖尿病発祥とかなり密接な関係が予想される。

元来の高齢者の健康寿命延伸法との関連であるが、若年性糖尿病は小学校等の健康診断で発見される場合が多い。症状が弱く、見逃される場合を多いらしいので、高齢者における上記4遺伝子多型(インスリン、GCK、UGGT1、CRBN)を解析する予定である。

## 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

1. Cho J, Horikawa Y, Enya M, Takeda J, Imai Y, Imai Y, Handa H, Imai T\*. *L*-Arginine prevents cereblon-mediated ubiquitination of glucokinase and stimulates glucose-6-phosphate production in pancreatic  $\beta$ -cells Communications Biology in press
2. 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 527(3):668-675, 2020 doi: 10.1016/j.bbrc.2020.04.158
3. Tsugawa Y, Natori M, Handa H, and Imai T\*. Estradiol accelerates liver regeneration through estrogen receptor  $\alpha$ . Clinical and Experimental Gastroenterology Volume12, 331-336, 2019 <https://doi.org/10.2147/CEG.S214196>
4. 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, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.05.044>
5. 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, PMID: 31055217 PMCID: PMC6501120 DOI: 10.1016/j.isci.2019.04.007
6. Tsugawa Y, Hiramoto M, Imai T\*. Estrogen induces Estrogen Receptor  $\alpha$  expression and hepatocyte proliferation in the late pregnancy. Biochem Biophys Res Commun Volume 511, Issue 3, 9 April 2019, Pages 592-596.

### 2. 学会発表

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

## 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