

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*）にて同定された。

*GCK ; glucokinase

*UGGT1 ; UDP-Glucose Glycoprotein Glucosyltransferase 1

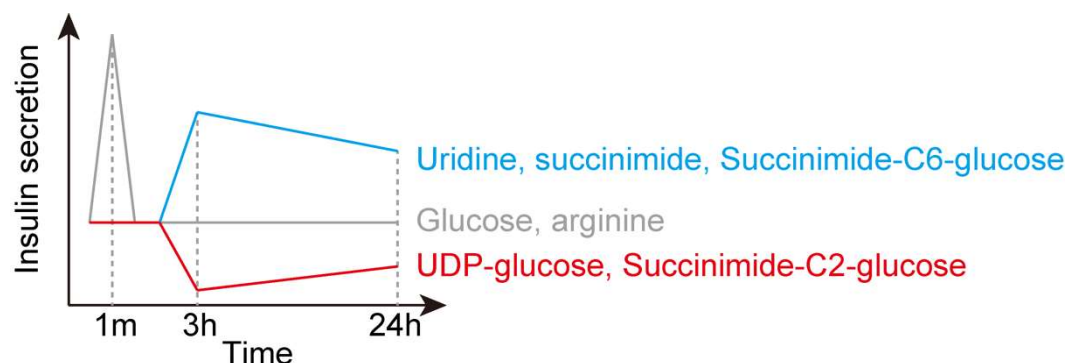
*MODY ; Maturity-onset diabetes of the young

GCK がアルギニンによりセレブロン由来のタンパク質分解が阻害される。また、UGGT1 及びプロインスリンもアルギニンによりセレブロン依存的なタンパク質分解が阻害される。セレブロンはリガンド誘導性ユビキチンリガーゼである。既知のリガンドはサリドマイド、ウリジン、スクシイミドである。我々は UDP グルコースがそのリガンドであることを突き止めた。



セレブロン + UDP グルコースによる種々のタンパク質分解とその抗老化作用

特に（長時間の）インスリン分泌促進制御は以下である。



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

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。

そのうち UGGT1 は小胞体（ER）タンパク質で、プロインスリンを小胞体にとどめておく因子である。特に絶食時（低いアルギニン状態）、プロインスリンは UGGT1 と結合しているため、小胞体に留まる。食事によりアルギニンが高まるとアルギニンは UGGT1 と

結合し、プロインスリンは UGGT1 と離れる（競合阻害）。ゴルジ体、分泌胞と移動し細胞外へ放出する。その際プロインスリンは UGGT1 と離れたのち、小胞体内で、ユビキチン化・分解されることを突き止めた。そのユビキチン化酵素はセレブロンであることも明らかにした。その誘導物質を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

B1) インスリン分泌制御

膵臓 β 細胞株（NIT-1 や MIN6）、野生型マウスに UDP グルコースや UDP グルコース誘導体を投与して、インスリン分泌能を継時的に測定した。 β 細胞株に関しては継時的に細胞を回収し、可溶化して細胞 Lysate を作成し、電気泳動し、抗インスリン抗体で WB することにより、プロインスリン量の測定を行なった。

B2) 老化細胞除去 1（細胞増殖抑制）

GCK (=HXK4) をはじめとする HXK ファミリーを分解することが判明した。HXK ファミリーは解糖系の第一酵素であり、律速段階である。細胞内に取り込まれたグルコースをグルコース-6-リン酸 (G6P) に変換する。よって、UDP グルコースによる HXK 分解活性は HXK WB (HXK タンパク質量) と G6P ELISA (HXK 酵素活性量) の二つで計測可能である。また、HXK が分解された細胞はその増殖が落ちる。これは培養皿上の細胞数をカウントした。

B3) 老化細胞除去 2（アポトーシス誘導）

アポトーシス検出方法は Annexin V FACS 法である。ナカライ社製。フローサイトメーターで計測する。

（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

C1) プロインスリン分解抑制によるインスリン分泌促進

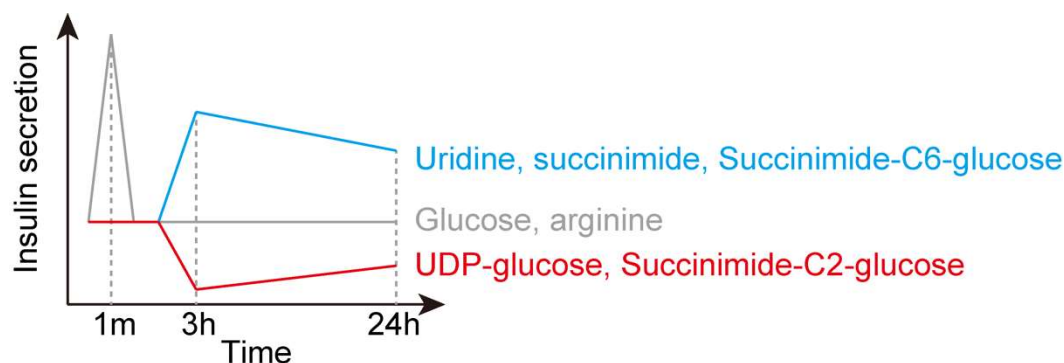
UGGT1 と離れたのち、プロインスリンはセレブロンにより、ユビキチン化・分解を受ける。その際のトリガー因子は UDP グルコースであることを同定した。

UDP グルコースを投与すると、投与後 3 時間~24 時間あたりで、プロインスリンが分

解されることを見出した。「セレブロン+UDP グルコース+プロインスリン」複合体の形成である。よってウリジンのみだと、セレブロンと結合し、UDP グルコースは結合することができないため、プロインスリンは蓄積する。

そのためプロインスリン量を持って（プロインスリンを分解する）UDP グルコース誘導体ないしは（プロインスリンを増やす）ウリジン誘導体を選別した。

ちなみに従来のインスリン分泌促進物質（糖やアルギニン等）は投与後 1-3 分程度でインスリン分泌を促進する。UDP グルコースは投与後 3 時間以内は変化がないが、3 時間以上ではプロインスリンを分解し、インスリン分泌を下げる。



C2) 老化細胞増殖抑制

GCK (=HXK4) をはじめとする HXK ファミリーを分解することが判明した。HXK ファミリーは解糖系の第一酵素であり、律速段階である。細胞内に取り込まれたグルコースをグルコース-6-リン酸 (G6P) に変換する。非がん細胞 HEK293 細胞株に UDP グルコースおよびその誘導体を投与すると、HXK タンパク質を分解し、産物 G6P 濃度が低下した。さらには、非がん HEK293 細胞の増殖が遅くなった。すなわち、UDP グルコースおよびその誘導体は HXK を分解し、G6P 産生を低下させ、解糖系を低下させ、その結果エネルギー産生が低下して、細胞増殖能が低下した。

老化、培養細胞の場合継代数を増やすと、その細胞増殖が上がるものと下がるものが存在する。HEK293 細胞の場合前者である。老化 HEK293 細胞は細胞数が増えることが予想される。よって、除去されるべき老化細胞の可能性がある。UDP グルコースにより、継代数が多い HEK293 細胞の方がより UDP グルコースにより細胞増殖が低下した。すなわち老化細胞の除去（老化細胞の増殖抑制）の可能性が示唆された。

C3) 老化細胞アポトーシス誘導

UDP グルコースはセレブロンを介して、プロインスリン、UGGT1、GCK、HXK 等のタンパク質を分解することが判明した。さらには BiP や gp96 といった小胞体ストレス因子群も分解することが判明した。同因子群はアポトーシスを抑制することが知られてい

る。そのため UDP グルコース（およびその誘導体）がアポトーシスを誘導するかを確かめた。すると興味深いことに、UDP グルコースは非がん細胞 HEK293 のアポトーシスを誘導した。

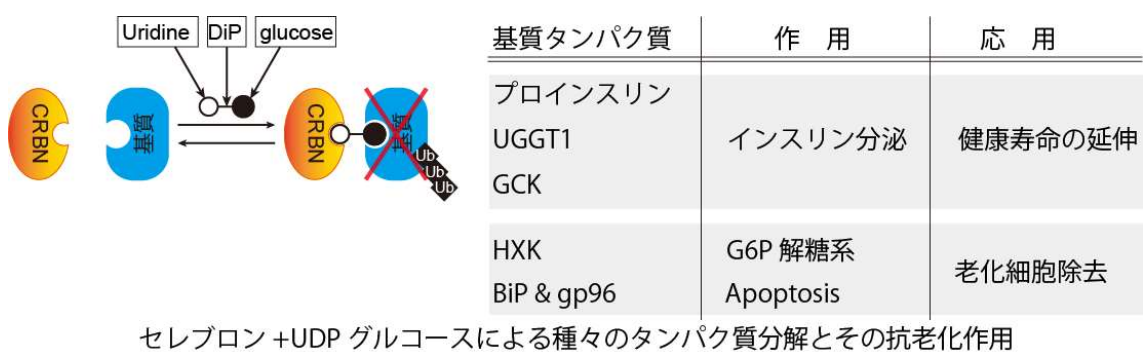
D. 考察と結論

D1) インスリン分泌促進

従来のインスリン分泌促進化合物は「糖」、「アミノ酸」等であり、投与後数分で一過的にインスリンの分泌を促進する。

しかし、UDP グルコースがセレブロンを介してプロインスリンを分解する時間は投与後 3 時間から 1 日程度である。同じタイムコース（3 時間=1 日）で、HXK や UGGT1 も分解する。その結果、長い時間（24・3=21 時間程度）β 細胞内小胞体におけるプロインスリン量は半分程度に下がり続ける、そのため、細胞外へ分泌されるインスリン量も半分程度になると考えられた。

CRBN と UDP グルコースによる基質タンパク質（プロインスリン等）のユビキチン化・分解は下図のようである。そのため、たとえばウリジンのみはセレブロンのみと結合するため、UDP グルコースによる基質タンパク質の分解を競合的に阻害する。また、スクシンイミドも同様である。よってこれらセレブロンのみ結合性化合物群は内因性 UDP グルコースにより（プロインスリン等の）分解活性を競合的に阻害し、細胞内プロインスリン量を増大させ、その結果分泌インスリン量を長時間増やした。



D2) 解糖系阻害による抗老化

UDP グルコースがセレブロンを介して分解するタンパク質の一つは GCK および HXK である。HXK は解糖系の律速酵素である。よって UDP グルコースは解糖系を落とす化合物である。解糖系阻害が抗老化作用となる報告が多く存在する。たとえば 2DG（2 でオキシグルコース）である。しかし、長期間服用すると細胞毒性が報告されている。よって、UDP グルコースないしはその誘導体で毒性の少ないものは抗老化作用が期待できる。

D3) 老化細胞の増殖抑制

(非がん) 老化細胞は 2 種類存在する。一つは老化細胞増殖が激しいもので、もう一つは老化細胞増殖が停止しているものである。前述の GCK 分解化合物 (UDP グルコース誘導体) は非がんの HEK293 細胞の増殖を抑え、なおかつアポトーシスを誘導することが判明した。

そのため、HEK293 細胞増殖をモデルにして、老化 HEK293 細胞 (継代数が多いもの) と若い HEK293 細胞に UDP グルコース誘導体を加えると、老化 HEK293 の方がより増殖が抑えられた。

すなわち UDP グルコースは老化細胞の増殖をより抑えることが判明した。すなわち、UDP グルコース誘導体は増殖能が高い老化細胞の増殖を落とす可能性が示唆された。

D4) 老化細胞の除去

上記の非がん細胞 HEK293 細胞に UDP グルコースは BiP/gp96 等のアポトーシス・ストレス対応因子のタンパク質分解誘導活性を有している。そのため、UDP グルコースは HEK293 細胞のアポトーシスを誘導する。

(継代数の多い) 老化 HEK293 細胞でも UDP グルコースがアポトーシスを誘導するかを確かめたい。もし、誘導すれば、老化細胞のアポトーシスを誘導することになる。すなわち、老化細胞除去活性を有することになる。

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。

※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) Jaeyong Cho; Yuji Tsugawa; Yumi Imai, T Imai*. Chorionic gonadotropin stimulates maternal hepatocyte proliferation during pregnancy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 579: 110-115, IF3.575 (2021).
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.09.039>, PMID: 34597993, PMCID: PMC8568302

2) 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**, in press, IF3.575 (2022).

2. 学会発表

1) 該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2022 年度名古屋工業大学と出願予定

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし