

血糖値をさげる新しい化合物を同定

— カイコを用いた新規薬物の同定と解析 —

平成 29 年 9 月 15 日

国立大学法人 群馬大学

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

■ ポイント ■

- ・ カイコにヒトの受容体を作らせ、これを用いて多数の化合物の中から薬剤の候補となる生理活性物質を探索する方法を開発した。
- ・ ヒトの受容体が多数存在している遺伝子改変カイコの細胞膜を使って、この受容体と結合する化合物(活性化する化合物)を探索した。特にインスリンの分泌を促進する効果が期待できる化合物を集中的に探索した。
- ・ 見つかった化合物が実際に血糖値を低下させることを、動物実験で実証した。

■ 概要 ■

国立大学法人 群馬大学【学長 平塚 浩士】(以下「群馬大学」という)大学院理工学府 武田 茂樹 教授のグループは、群馬大学「医理工生命医科学融合医療イノベーションプロジェクト」・「生活習慣病プロジェクト」および農林水産省委託プロジェクト研究「医薬品作物、医療用素材等の開発」の一環として、群馬大学生体調節研究所 北村 忠弘 教授、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構(農研機構)【理事長 井邊 時雄】生物機能利用研究部門 瀬筒 秀樹 ユニット長らとの共同研究により、血糖値を低下させる活性をもつ化合物を新たに発見した。本化合物はインスリンの分泌を促進させる方法の研究や糖尿病治療薬の開発に利用できると期待される。

今回血糖値を低下させる化合物を探索するために、インスリンの分泌促進に関わるGタンパク質共役受容体の一種であるGPBAに注目した。この受容体を活性化させてインスリンの分泌を促して血糖値を低下させる化合物を探索するためには、大量のGPBAが必要となる。その大量のGPBAを安定に生産するために、カイコにヒトのGPBAの遺伝子を導入してヒトのGPBAをもった遺伝子改変カイコを作出した。さらにこのGPBAが多数存在しているカイコの細胞膜に化合物を加えた時に化合物がGPBAを活性化させるかどうかを、簡便に区別できる探索系を開発した。この探索系を用いて、理化学研究所の化合物ライブラリー(NPDepo)に含まれる 10,625 種類の中からGPBAを活性化させる化合物を見出した。マウスを用いた動物実験の結果、この化合物が実際に血糖値を低下させる効果をもつことを確認することができた。

■ 研究の経緯 ■

群馬大学では、既存の組織形態に縛られない理工学府と医学系研究科が連携した体制を構築し、医療産業をリードする国際的研究・教育拠点を形成することや、医学と理工学を統合した分野統合リーダーの養成・輩出を行うことを

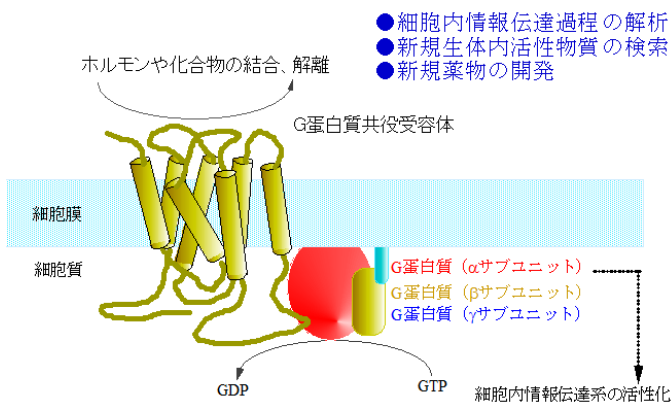
目指して、2014年度より文科省特別経費事業として医理工生命医科学融合医療イノベーションプロジェクトを進めている。このプロジェクトの主要テーマの一つとして、遺伝子改変カイクによる有用タンパク質の効率的な生産方法の確

立や新薬候補化合物の発見などに取り組んできた。また、群馬大学の「生活習慣病プロジェクト」では、糖尿病、肥満、動脈硬化などの生活習慣病になりやすい素因と生活習慣によって誘発される原因を解析している。

GPBAは胆汁酸に対する受容体であり、胆のうや小腸などに発現している。GPBAを活性化させる化合物の開発は、糖尿病治療薬の新薬候補化合物として世界中の製薬会社各社で行われてきたが、胆のうの肥大などの副作用が懸念され、新薬としては開発の成功に至っていない。今回、群馬大学が発見した化合物は、これまでに開発されてきたGPBAの活性化化合物とは異なり、最大活性においても受容体を100%は活性化しない「部分作動薬」という種類である。この化合物をもちいた動物実験で、GPBAの部分作動薬が実際に血糖値を低下させることができることが証明できたため、GPBAの部分作動薬により副作用を軽減した新たな薬剤の開発が期待できることが示唆された。この結果は、European Journal of Pharmacology の8月17日号オンライン版に掲載¹⁾された。これまでも同様に、群馬大学は遺伝子改変カイクを用いてヒトGタンパク質共役受容体を生産し、それを利用して新規鎮痛薬候補化合物を発見したことを European Journal of Pharmacology の2015年11月15日号で発表²⁾しており、今後もこうした手法による新規治療薬候補化合物の発見が期待される。

■ 研究の内容 ■

G タンパク質共役受容体は細胞膜上にあつて細胞がホルモンなどの外部からの刺激を感知するためのセンサーとして働いている。そのためこれらの受容体に結合する化合物は、ホルモンなどの代わりに細胞に信号を伝えたり、逆に信号を遮断したりすることで、薬として使用できる可能性がある。Gタンパク質共役受容体はヒトでは約850種類ほどあるが、現在使用されている多くの臨床薬がGタンパク質共役受容体をターゲットにしているため、受容体に結合できる化合物の探索は公的研究機関だけでなく創薬をめざす製薬会社やベンチャー企業などが盛んに行っている。通常は動物培養細胞に対象とする受容体を発現させ、化合物を培地に加えた時に起こる細胞の変化を観測することを基本にしている。ただし、この場合は使用した化合物に対して動物培養細胞にもともと存在する内在性受容体の効果も現れるため、これが測定の結果を混乱させるもととなる。



G タンパク質共役受容体は細胞膜上のセンサー

G タンパク質共役型受容体は細胞膜を7回貫通する構造をもつ受容体で、ホルモンなどの細胞外のシグナルを細胞内のG蛋白質に伝達し、細胞内にさまざまな変化を誘導する。その機能は生理的に重要で、創薬のターゲットとして注目されている。

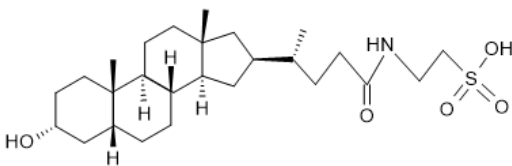
群馬大学では、カイコにヒトの受容体の遺伝子を導入することで、ヒトの受容体をもった遺伝子改変カイコの作製に成功している。また、化合物による受容体への効果をより簡便かつ正確に測定するために、遺伝子改変カイコに作ら

せた受容体を用いて、多数の化合物の中から受容体に結合して薬剤候補となる生理活性を示す化合物を探索する方法の開発にも成功している。これらの方法は、約850種類存在するヒトの受容体すべてに応用可能である。最近薬をコンピューターによる計算で設計する機会が多くなってきているが、設計・合成された化合物の働きを簡便に比較・解析する方法として、今回開発された方法は有用である。



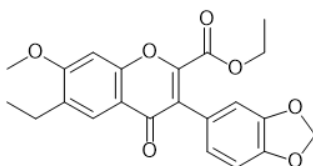
ヒトの受容体をもつ遺伝子改変カイコ

ヒトの遺伝子と受容体をもつ遺伝子改変カイコも、通常のカイコのように正常に生育する。



生体内でGPBAに働く胆汁酸のうちの一例の化学構造式

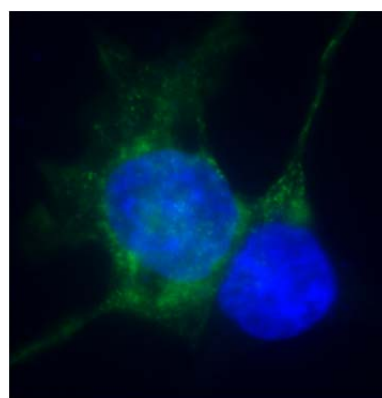
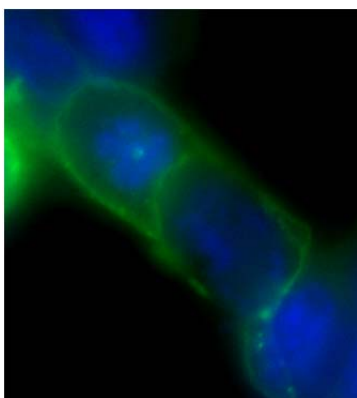
胆汁酸は消化を助けるだけでなく、細胞にシグナルを伝える情報伝達物質としても働いている。



今回発見した新規血糖値を低下させる化合物の

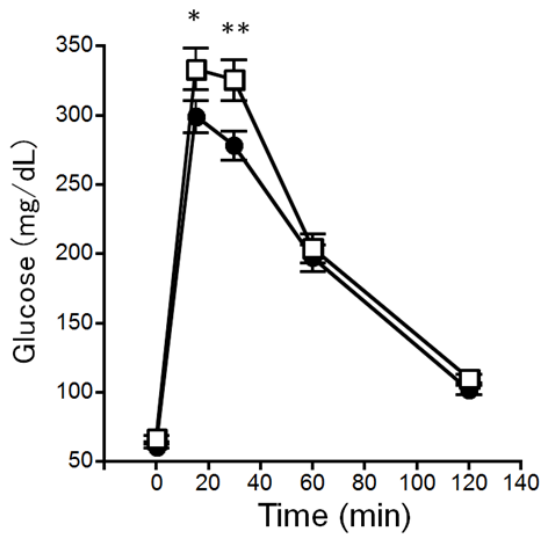
化学構造式

生体内でGPBAに働く胆汁酸とは、全く異なる化学構造をもつ。



発見した化合物はGPBAに作用する

細胞に顕微鏡で緑色に見えるようにしたGPBAを発現させると、緑色のGPBAは細胞の縁に見られることから細胞膜上にあることがわかる(左)。今回発見した化合物をこの細胞の培地に加えると、30分後には緑色のGPBAは細胞の縁ではなく、細胞の中に集まって粒のように見える(右)。これは、化合物がGPBAに作用した証拠である。



マウスを用いた血糖値を低下させる効果の 確認実験の結果

一晩絶食させたマウスにグルコースと今回同定した化合物を腹腔内投与した場合の血糖値の変化。●は化合物を投与した場合、□は化合物ではなく対照として生理的リン酸緩衝液のみを投与した場合。化合物を投与することで、投与後30分後において、統計的に優位な血糖値の低下が確認できた。

■ 今後の予定 ■

今回発見した化合物の誘導体について、より少量で効果をもつ化合物の設計・探索を行っていく予定である。また経口投与での効果の確認や長期投与の影響について検討する必要がある。現在、GPBAだけでなく他の数種類のGタンパク質共役受容体を対象とした新薬候補化合物の探索・設計を行っており、新たな有用タンパク質を生産するカイコの作出も進めている。今後も同様の医理工連携の成果が期待される。

■ 論文情報 ■

1) A novel partial agonist of GPBA reduces blood glucose level in a murine glucose tolerance test.

Enomoto R, Kurosawa A, Nikaido Y, Mashiko M, Saheki T, Nakajima N, Kuroiwa S, Otobe M, Ohsaki M, Tooyama K, Inoue Y, Kuwabara N, Kikuchi O, Kitamura T, Kojima I, Nakagawa Y, Saito T, Osada H, Futahashi M, Sezutsu H, Takeda S. Eur J Pharmacol. 2017 Aug 17.; in press.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014-2999\(17\)30532-0](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014-2999(17)30532-0)

2) In vivo and in vitro evaluation of novel μ -opioid receptor agonist compounds.

Nikaido Y, Kurosawa A, Saikawa H, Kuroiwa S, Suzuki C, Kuwabara N, Hoshino H, Obata H, Saito S, Saito T, Osada H, Kobayashi I, Sezutsu H, Takeda S. Eur J Pharmacol. 2015 Nov 15.;767:193-200.

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014-2999\(15\)30306-X](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014-2999(15)30306-X)

■ 本件問い合わせ先 ■

国立大学法人 群馬大学 大学院 理工学府

教授 武田 茂樹 〒376-8515 群馬県桐生市天神町1-5-1

TEL:0277-30-1230 FAX:0277-30-1233

E-mail: stakeda@gunma-u.ac.jp

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門

新産業開拓研究領域 カイコ機能改変技術開発ユニット

ユニット長 瀬筒 秀樹 〒305-8634 茨城県つくば市大わし 1-2

TEL:029-838-6091 FAX:029-838-6028

E-mail: hsezutsu@affrc.go.jp

【取材に関する窓口】

国立大学法人 群馬大学

〒371-8510 群馬県前橋市荒牧町 4-2 群馬大学総務部総務課広報係

TEL:027-220-7010 FAX:027-220-7012 E-mail: s-public@jimu.gunma-u.ac.jp

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門

〒305-8602 茨城県つくば市観音台 2-1-2 企画管理部企画連携室 広報プランナー

TEL:029-838-7423 FAX:029-838-7416 E-mail: nias-renkei@naro.affrc.go.jp

【用語説明】

◆ 受容体

受容体とは細胞膜、細胞質または核内にあるタンパク質で、それに対する特異的な物質（例えば神経伝達物質、ホルモン、様々な薬剤）などの物質を結合することで、細胞外のシグナルを細胞内シグナルに変換して細胞の反応を開始させるものを呼ぶ。細胞が外部からの刺激をキャッチする生体センサーとして働く。

◆ 糖尿病治療薬

日本での糖尿病患者は年々増加の傾向にあり、その治療薬の開発は近年でも続いている。糖尿病の治療のための血糖値をコントロールする薬物には、インスリンの量を増やすもの、腸管からの糖の吸収を抑制するもの、腎臓からの糖の排出を促進するもの、インスリン抵抗性を改善させるもの、などがある。近年の新薬としては、インスリンの量を増やすものとして、腸から分泌されてインスリンの分泌を促進する GLP-1 の構造類似体や、GLP-1 の分解を抑制する化合物などがあり、また腎臓からの糖の排出を促進するものとして、腎臓でのグルコースの再吸収を抑制する化合物などが認可された。

◆G タンパク質共役受容体

細胞膜上に存在するタンパク質の一種であり、タンパク質の中でも最大のスーパーファミリーを形成している。ホルモンや薬などが G タンパク質共役受容体に結合すると、三量体 G タンパク質と共役して働いて、細胞内に細胞内カルシウム濃度上昇などのさまざまな変化を誘導する。G タンパク質共役受容体は、その種類が多いこと、さまざまな生理作用に関与すること、実際に多くの医薬品がその機能に影響を及ぼす形で薬理作用を示すこと、などの理由から、薬物標的の研究や新薬開発において最も重要な位置づけにある。G タンパク質共役受容体の発見や構造解析における貢献から、Robert Lefkowitz と Brian Kobilka は 2012 年のノーベル化学賞を受賞した。

◆GPBA

GPBAは G タンパク質共役受容体の一種である。GPBAは全身の多くの細胞で発現している。特に胆のうに多い。膵臓のGPBAはインスリンの分泌促進に関わっている。小腸の後部には L 細胞と呼ばれる分泌細胞があり、この細胞表面のGPBAに小腸内の胆汁酸が結合すると、GLP-1 の分泌が促進される。GLP-1 はインスリン分泌を促し、全身でインスリン感受性を亢進させる。また、褐色脂肪組織や骨格筋において GPBAは熱産生亢進、脂肪酸酸化を増加させるので、抗肥満に関連があると考えられている。単球やマクロファージではGPBAは胆汁酸によるサイトカイン産生抑制に関与することから、免疫機能調節薬の分子ターゲットとしても期待されている。これまでにGPBAに結合する化合物が多数開発され、インスリン分泌量の増加、血糖値の低下、体重増加の抑制、などの効果が報告されている。一方で、長期投与による効果の減退、胆のうの肥大、などの問題も報告されており、これまでにはGPBAをターゲットにした新薬は認可されていない。

◆部分作動薬

医薬品の中には受容体を100%活性化せずに、中途半端にしか活性化しない化合物が存在する。このような化合物を部分作動薬と呼ぶ。病気の時には「生体内のシグナルが不足している、または過剰になっている」のどちらである可能性があり、このような場合には生体内シグナルを正常な状態に戻す必要がある。ホルモンなどの生体内のシグナルが不足している時には、ホルモンなどの代わりとして薬が受容体を活性化させることができれば、元の正常な状態へと戻すことができる。これは受容体の作用を 100%引き出す薬でなくても、部分作動薬でも可能である。シグナルが過剰になっている場合には受容体を完全に遮断する薬を用いる場合があるが、部分作動薬でもシグナルを弱めることができる。なお、部分作動薬がどの程度まで受容体を活性化するかは、それぞれの部分作動薬として働く化合物の種類によって異なる。