

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Progress in Medicine (2012.09) 32巻9号:1879~1882.

【インクレチン関連薬の現状と課題】  
インクレチンに関する最近の話題  
Short-form GIPを用いた治療戦略

藤田 征弘, 羽田 勝計



藤田 征弘

## 4. インクレチンに関する最近の話題

## 3) Short-form GIPを用いた治療戦略

Fujita Yukihiko  
藤田 征弘Haneda Masakazu  
羽田 勝計\*

\*旭川医科大学内科学講座病態代謝内科学分野

## はじめに

インクレチンであるGIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide)とGLP-1 (glucagon-like peptide-1)は主として小腸から分泌される腸管ホルモンで、糖質や脂質などの食事由来の刺激により、主として小腸のK細胞(GIP)とL細胞(GLP-1)から門脈血中に分泌され、膵臓ランゲルハンス島の $\beta$ 細胞からそれぞれのG蛋白共役性受容体を介して、血糖依存性にインスリン分泌を促進する。インクレチン関連薬であるDPP-4阻害薬が実臨床で使用されているが、DPP-4阻害薬とGLP-1受容体作動薬の違いは、DPP-4阻害薬は内因性インクレチンに基づく作用であることと、DPP-4阻害薬がGLP-1のみでなくGIPの不活化を阻害するため、GIP作用も発揮されることである。

消化管から分泌される活性型GIPは、アミノ酸が42個からなる。最近の研究から、GIPにはカルボキシル基側のアミノ酸を欠損した短型(short-form) GIPが存在することが明らかになった。Short-form GIPは消化管のみならず、膵島から分泌されていることが証明されている。アミノ基側は保存されていることから、DPP-4にて不活性化を受けると考えられている。さらに、全長型GIP<sub>1-42</sub>との生理学的・薬理的な相違点が徐々に明らかになりつつある。

本稿では、short-form GIPの最新の知見を紹介し、'Short-form GIPを用いた治療戦略'について、その可能性を考察してみたい。

GIP受容体を介する作用：  
代謝に対する対峙する二面性

GIPは、膵 $\beta$ 細胞に対して、インスリン分泌、インスリンの生合成、 $\beta$ 細胞保護などの作用が報告されている<sup>1)</sup>。われわれも $\beta$ 細胞保護に関して、GLP-1とGIPが相加的に働くことを報告している<sup>2)</sup>。GIPは、膵 $\beta$ 細胞に対してはGLP-1と作用が類似している<sup>3)</sup>。一方、膵 $\alpha$ 細胞に対しては血糖低下時にグルカゴン分泌を促進する作用がある。膵臓以外では、GIPとGLP-1は作用が異なる。GLP-1は視床下部の摂食中枢や満腹中枢に作用して食欲を低下させ、また胃排泄時間を延長させることで体重減少につながる。一方、GIPは脂肪細胞での遊離脂肪酸の取り込みや脂肪の合成に関わっており、いわゆる'lipogenesis'へ働き、体重増加へつながることが懸念されている<sup>1)</sup>。一方で、骨代謝に対しては、カルシウム沈着の促進など望ましい作用を有している。最近では、炎症系細胞に作用して、抗動脈硬化作用を発揮するとの報告もある<sup>4)</sup>。

GIP受容体はG蛋白質共役受容体で、三量体GTP結合蛋白と共役してアデニル酸シクラーゼを活性化させ、 $\beta$ 細胞内cAMP濃度を上昇させる<sup>1)</sup>。なお、GIP受容体への結合にはGIPのアミノ酸配列のうち6から30番が重要であると報告されている。細胞内cAMP濃度の上昇は、主にPKA (protein kinase A) 依存性の経路と非依存性の経路でインスリン分泌を促進させる。cAMP濃度の上昇は、caspase-3の抑制やp38MAPKを介して $\beta$ 細胞(*in vitro*)のsurvivalに関与している。さらにGIPはAktを介してFoxo1をリン酸化させ、Foxo1が核

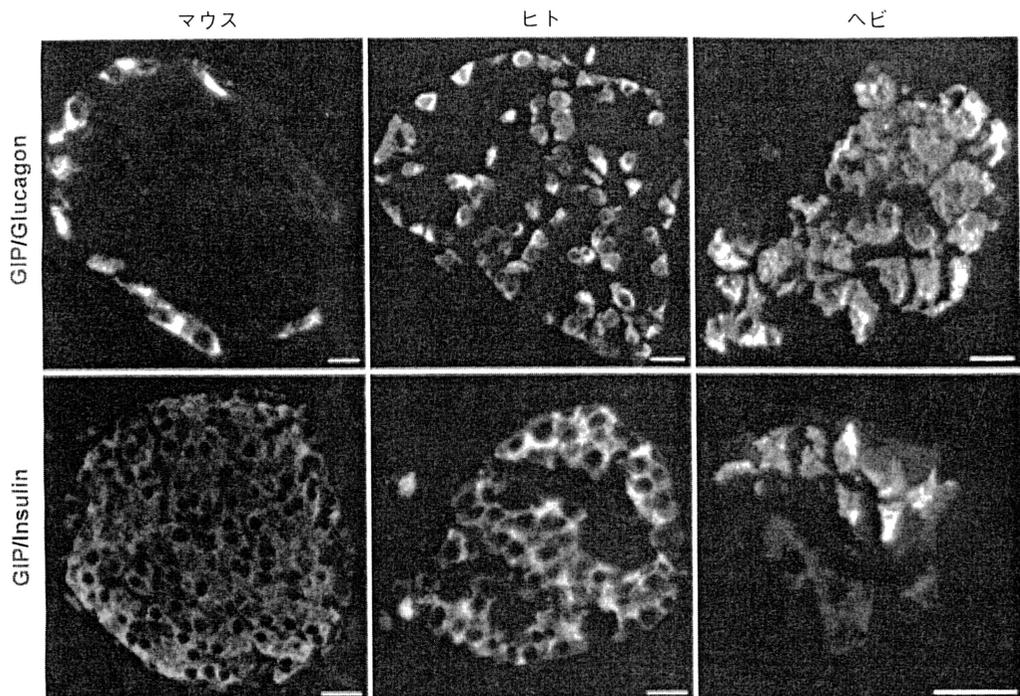


図1 膵島におけるGIP、インスリン、グルカゴン発現

上段はGIPとグルカゴン、下段はGIPとインスリンの蛍光免疫二重染色を示す。GIPの染色にはGIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体を用いている。

(文献12より作成)

内から細胞質へ移行することで、Baxを減少させBcl-2を上昇させることでβ細胞保護へ働くことが知られており、これは糖尿病モデル動物でも確認されている<sup>5)</sup>。

高血糖状態では、外因性のGIPによるインスリン分泌効果は低下している。その原因として、動物モデルでは、β細胞の細胞膜におけるGIP受容体の発現が減少していることが理由に挙げられている。一方で、糖尿病患者でも、インスリンで血糖コントロールをある程度改善することで、GIPによるインスリン分泌効果は改善すると報告されている<sup>6)</sup>。

GIP受容体欠損マウスでは、高脂肪食負荷による肥満を起さず、エネルギー消費を増加させる。さらに、肥満モデルのob/obマウスはGIP受容体欠損マウスとの掛け合わせにより体重が41%減少し、脂質異常も改善したと報告されている<sup>7)</sup>。GIPは培養脂肪細胞や肥満糖尿病モデルでLPL活性を上昇させ、中性脂肪の蓄積を促す<sup>8)</sup>。ただし、ヒトでのGIPの脂質代謝、肥満形成の役割については明らかではない。

## GIPのプロセッシングと膵α細胞でのGIP発現

GIP遺伝子から転写・翻訳されたのち、プロホルモ

ン(ProGIP)はシグナルペプチドが切断され、prohormone convertase 1/3 (PC1/3またはproprotein convertase subtilisin/kexin-type 1; PCSK1)によってのみプロセッシングを受けるとされていた。Holstらのグループは、PC1/3欠損マウスではGIPの全長型であるGIP<sub>1-42</sub>を認めず、PC2(PCSK2)欠損マウスではGIP<sub>1-42</sub>を認めたことから、PC1/3がGIP<sub>1-42</sub>の重要なプロセッシング酵素であるとした<sup>9)</sup>。われわれの検討でも、GIP<sub>1-42</sub>のカルボキシル基末端を認識する抗体では、PC1/3とGIPとの共発現を認めたが、PC2とは共発現を認めなかった<sup>10)</sup>。しかし、GIPのアミノ酸配列には、<sup>30</sup>KGKK(マウス<sup>30</sup>RGKK)というPC2で切断され得るputative siteが存在する。したがって、ProGIPがPC2でプロセッシングを受けると短型のGIPが生成され得る。最終的には、peptidyl-glycine α-amidating monooxygenaseによってアミド型のGIP<sub>1-30</sub>になると考えられる。

われわれは、GIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体を用いて小腸でのGIPの発現を検討した<sup>10)</sup>。GIP<sub>1-42</sub>のカルボキシル基末端を認識する抗体では認識されるGIPは、常にGIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体でも認識されるが、逆にGIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体でのみ認識されるGIPがあることがわかった。さらに、GIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体で認識されるGIP陽性細胞の一部はPC2が陽性であった。興味深い

ことに、PC2を欠損したマウスでは逆に、GIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体でのみ認識されるGIPを認めず、すべてGIP<sub>1-42</sub>であったと考えた。以上より、小腸でPC2によりプロセッシングを受けたshort-form GIPが発現していることが明らかになった<sup>10)</sup>。

特に下部小腸では、GIPとGLP-1が共発現している内分泌細胞を認める<sup>11)</sup>。つまり、GIP遺伝子とプログルカゴン遺伝子が同一の細胞に発現していることになる。そこで、膵α細胞でもプログルカゴン遺伝子とともにGIP遺伝子が発現しているか検討したところ、RT-PCR法と*in situ* hybridization法でマウス膵島にGIPのmRNAの発現を認めた<sup>12)</sup>。さらにマウス、ヒトおよびヘビの膵島における免疫組織学的検討では、GIP<sub>1-42</sub>のカルボキシル基末端を認識する抗体ではGIPの発現を検出できなかったが、GIP<sub>1-30</sub>を認識する抗体でα細胞にGIP発現を認めた(図1)。したがって、膵α細胞のGIPはshort formであることが明らかになった。PC2欠損マウスでは、膵α細胞のGIPはカルボキシル基末端を認識する抗体でも認識できたことより、ProGIPがα細胞のPC2でプロセッシングを受けたものと考えられた<sup>12)</sup>。

Prasadanらは、マウス胎仔の膵島にGIPが発現していること、さらにsiRNAで膵でのGIP発現を抑制するとインスリンやβ細胞で重要な転写因子であるPdx-1の発現が抑制されることを報告している<sup>13)</sup>。したがって、膵GIPが膵島の形成に重要であることが示唆される。

## Short-form GIPの生理学的、 薬理学的作用と糖尿病治療への応用

マウス灌流膵の検討では、C末端が短縮したGIP<sub>1-30</sub>はGIP<sub>1-42</sub>とほぼ同等に濃度依存性のインスリン分泌促進作用を示した<sup>12)</sup>。GIP<sub>1-42</sub>は薬理的濃度で胃からのソマトスタチン分泌を促進するが、灌流胃での検討でGIP<sub>1-30</sub>はGIP<sub>1-42</sub>と同じようにソマトスタチンを分泌した。さらに、マウスとヒトの単離膵島から、アルギニン刺激により生物活性があるGIPが分泌された。単離膵島において、培養液中のグルコース濃度に応じてインスリンが分泌されるが、GIP<sub>1-30</sub>の中和抗体やGIP受容体抗体を膵島に添加すると、ブドウ糖依存性のインスリン分泌が抑制された。このことは、膵島内でshort-form GIPが分泌され、膵島内でパラクリンの糖依存性のインスリン分泌に関わっていることが示さ

れた<sup>12)</sup>。膵島由来のGIPは膵島のグルコース感受性を促進するほか、膵島の発生や生存に関わっている可能性も高い。

Widenmaierらは、DPP-4抵抗性short-form GIP(D-GIP<sub>1-30</sub>)を作製し、様々な検討を行った<sup>14)</sup>。肥満糖尿病モデル動物のVDFラットにD-GIP<sub>1-30</sub>を投与することで、腹腔内ブドウ糖負荷時のインスリン分泌を上昇させ、負荷後高血糖の上昇を抑制した。STZを用いた検討では、D-GIP<sub>1-30</sub>はβ細胞に対する保護作用を示し、膵島の形態を保持した。また、VDFラットにおいてもD-GIP<sub>1-30</sub>は、β細胞の増殖は促さないがアポトーシスを著明に抑制し、β細胞量を保持してインスリン分泌や耐糖能を改善させた。一方、D-GIP<sub>1-30</sub>は肥満糖尿病モデルにおいて懸念される体重増加を誘発しなかった。脂肪細胞においてGIPは脂肪合成に関わるLPL活性を上昇させるが、short-form GIPはGIP<sub>1-42</sub>に比較しその作用が小さかった<sup>14)</sup>。したがって、short-form GIPは糖尿病治療に応用できる可能性が十分あると思われる。

## おわりに

GIPは、代謝においてインスリン分泌促進と脂肪蓄積の二面性があり、GIP関連薬はまだ動物での検討だけで、これがそのままヒトに応用できるかわからない部分も多い。しかし、上記の観察より今後DPP-4抵抗性short-form GIPを用いた糖尿病治療が実用化される可能性も期待されよう。この分野の、さらなる研究の発展や臨床的な裏づけが今後必要となるであろう。

## 文献

- 1) Baggio LL, Drucker DJ: Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 2007; 132: 2131-2157.
- 2) Takeda Y, Fujita Y, Honjo J, et al: Reduction of both beta cell death and alpha cell proliferation by dipeptidyl peptidase-4 inhibition in a streptozotocin-induced model of diabetes in mice. *Diabetologia* 2012; 55: 404-412.
- 3) Christensen M, Vedtofte L, Holst JJ, et al: Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: a bifunctional glucose-dependent regulator of glucagon and insulin secretion in humans. *Diabetes* 2011; 60: 3103-3109.
- 4) Nagashima M, Watanabe T, Terasaki M, et al: Native incretins prevent the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Diabetologia* 2011; 54: 2649-2659.
- 5) Kim SJ, Winter K, Nian C, et al: Glucose-dependent

- insulinotropic polypeptide (GIP) stimulation of pancreatic beta-cell survival is dependent upon phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (PKB) signaling, inactivation of the forkhead transcription factor Foxo1, and down-regulation of bax expression. *J Biol Chem* 2005 ; **280** : 22297-22307.
- 6) Hansen KB, Vilsbøll T, Bagger JJ, et al : Impaired incretin-induced amplification of insulin secretion after glucose homeostatic dysregulation in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2012 ; **97** : 1363-1370.
  - 7) Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, et al : Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nat Med* 2002 ; **8** : 738-742.
  - 8) Kim SJ, Nian C, McIntosh CH : Resistin is a key mediator of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) stimulation of lipoprotein lipase (LPL) activity in adipocytes. *J Biol Chem* 2007 ; **282** : 34139-34147.
  - 9) Ugleholdt R, Poulsen ML, Holst PJ, et al : Prohormone convertase 1/3 is essential for processing of the glucose-dependent insulinotropic polypeptide precursor. *J Biol Chem* 2006 ; **281** : 11050-11057.
  - 10) Fujita Y, Asadi A, Yang GK, et al : Differential processing of pro-glucose-dependent insulinotropic polypeptide in gut. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010 ; **298** : G608-G614.
  - 11) Fujita Y, Chui JW, King DS, et al : Pax6 and Pdx1 are required for production of glucose-dependent insulinotropic polypeptide in proglucagon-expressing L cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008 ; **295** : E648-E657.
  - 12) Fujita Y, Wideman RD, Asadi A, et al : Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is expressed in pancreatic islet alpha-cells and promotes insulin secretion. *Gastroenterology* 2010 ; **138** : 1966-1975.
  - 13) Prasad K, Koizumi M, Tulachan S, et al : The expression and function of glucose-dependent insulinotropic polypeptide in the embryonic mouse pancreas. *Diabetes* 2011 ; **60** : 548-554.
  - 14) Widenmaier SB, Kim SJ, Yang GK, et al : A GIP receptor agonist exhibits beta-cell anti-apoptotic actions in rat models of diabetes resulting in improved beta-cell function and glycemic control. *PLoS One* 2010 ; **5** : e9590.

### *Short-form GIP: New Strategy to Treat Diabetes*

Yukihiro Fujita and Masakazu Haneda\*

\*Division of Metabolism and Biosystemic Science, Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical University

Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) is a gut peptide, which modulates insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells in glucose-dependent manner. Recently, C-terminus truncated GIP (short-form GIP) was identified in the gut and pancreatic  $\beta$  cells. Short-form GIP is involved in glucose-dependent insulin secretion in a paracrine manner. A recent report showed that DPP-4 resistant short-form GIP improved insulin secretion and  $\alpha$  cell function in the diabetic animals. Further basic and clinical studies are required to prove efficacy of the strategy.