

京都大学	博士（医学）	氏名	岩崎可南子
論文題目	Free Fatty Acid Receptor GPR120 is Highly Expressed in Enteroendocrine K Cells of the Upper Small Intestine and Has a Critical Role in GIP Secretion After Fat Ingestion (脂肪酸受容体 GPR120 は上部小腸 K 細胞に高発現し脂肪摂取後の GIP 分泌に深く関与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 Gastric inhibitory polypeptide(GIP)は、栄養素の摂取により腸管内分泌 K 細胞から分泌され、膵β細胞に作用してインスリン分泌を増強する消化管ホルモン(インクレチン)である。GIP は同じインクレチンである glucagon-like peptide-1(GLP-1)に比較して摂取する栄養素によってその分泌量に変化し、脂肪摂取が GIP 分泌を強く刺激することが知られている。しかし K 細胞の消化管内での分布や特性の違いに加えて、K 細胞が摂取した脂肪を感知して GIP を分泌する機序は、生体内で K 細胞を腸管上皮細胞と識別することが不可能なため、未だ不明な点が多い。近年、脂肪酸をリガンドとする G タンパク質共役受容体(GPCR)が複数同定され、GLP-1 分泌への関与が報告されている。申請者は、K 細胞可視化マウスを用いて K 細胞での脂肪酸および胆汁酸受容体発現や脂肪酸受容体の GIP 分泌への関与について評価した。</p> <p>【方法】 GIP 遺伝子プロモーター下に緑色蛍光蛋白 GFP を発現する GIP-GFP ノックイン(GIP-GFP)マウスを用いて K 細胞の解析を行った。消化管における K 細胞(GFP 陽性細胞)の局在と細胞数を、蛍光顕微鏡および抗 GFP 抗体による免疫組織染色法を用いて評価した。またフローサイトメーターを用いて各腸管部位から単離回収した K 細胞と非 K 細胞(GFP 陰性細胞)内 GIP mRNA 量および GIP 含有量を定量的 PCR 法および ELISA 法で比較検討した。次に K 細胞内の脂肪酸および胆汁酸をリガンドとする GPCR (GPR120, GPR40, GPR41, GPR43, GPR119, TGR5) の mRNA 発現量を腸管部位別に評価した。本研究は、長鎖脂肪酸受容体 GPR120 に注目し、GPR120 欠損マウス(GPR120<sup>-/-</sup>)および GPR120 の部分アゴニストである grifolic acid methyl ether 投与モデルにおける経口ブドウ糖負荷(oral glucose tolerance test; OGTT)や経口ラード負荷(oral lard oil tolerance test; OLTT)時の末梢血 GIP 濃度を測定し、曲線下 GIP 濃度(GIP 分泌量)を評価した。また腸管灌流法を用いて上部小腸と下部小腸の管腔内へのラード投与後の門脈血 GIP 濃度を測定した。</p> <p>【結果】 GIP-GFP マウスの腸管を用いた免疫組織染色とフローサイトメトリー解析において、K 細胞は上部小腸と下部小腸のみに分布し、胃や大腸では認められなかった。上部および下部小腸の K 細胞数はそれぞれ腸管上皮細胞全体の 0.052%と 0.028%であり、上部小腸で有意に高かった(p&lt;0.05)。K 細胞内 GIP mRNA および GIP 含有量は、下部小腸に比較して上部小腸で有意に高かった。上部および下部小腸非 K 細胞では、GIP mRNA および GIP 蛋白は検出されなかった。以上から上部小腸 K 細胞は、下部小腸 K 細胞に比較して細胞数および K 細胞内の GIP 含有量が高いことが示された。</p> <p>次に上部及び下部小腸の K 細胞と非 K 細胞における脂肪酸および胆汁酸受容体の発現を評価したところ、長鎖脂肪酸受容体 GPR120 のみが上部小腸 K 細胞に特異的に高発現し、一方で GPR40 や GPR43 が下部小腸 K 細胞で高発現して</p>			

いた。GPR41、GPR119、TGR5 発現は下部小腸 K 細胞で高い傾向にあるが、有意な差は認めなかった。そこで細胞数および GIP 含有量の多い上部小腸 K 細胞に高発現する GPR120 に注目し、野生型マウス(WT)と GPR120<sup>-/-</sup>に OGTT と OLTT を行い、GIP 分泌量を評価した。OGTT 時の GIP 分泌量は両群間に有意な差を認めなかったが、OLTT 時の GIP 分泌量は WT に比較して GPR120<sup>-/-</sup>で 75%減少した。次に WT に対して grifolic acid methyl ether を経口で前投与したところ、OLTT 時の GIP 分泌量は WT に比較して有意に低下した。そして WT を用いて上部及び下部小腸管腔内へのラード灌流後門脈血 GIP 濃度を評価したところ、下部小腸に比較して上部小腸灌流時の GIP 濃度が有意に高かった。GPR120<sup>-/-</sup>を用いて同様の実験を行ったところ、GPR120<sup>-/-</sup>は WT に比較してラード灌流後の門脈血 GIP 濃度が有意に低下した。以上から脂肪摂取による GIP 分泌に GPR120 が関与することが示された。

【結語】 GIP を分泌する K 細胞は小腸のみに分布し、細胞数や細胞内 GIP 含有量は下部小腸に比較して上部小腸で高いことが判明した。そして上部小腸 K 細胞に高発現する脂肪酸受容体 GPR120 は、脂肪摂取後の GIP 分泌に関与することが明らかとなった。

(論文審査の結果の要旨)

Gastric inhibitory polypeptide(GIP)は腸管内分泌 K 細胞から分泌され、膵β細胞からインスリン分泌を促進する消化管ホルモン(インクレチン)である。脂質摂取によって GIP 分泌は強く誘導されるが、その分子機構は不明な点が多い。申請者は、K 細胞可視化が可能な GIP-GFP ノックイン(GIP-GFP)マウスと GPR120 欠損マウス(GPR120<sup>-/-</sup>)を用いて、K 細胞の消化管内分布や特性の違いに加え、K 細胞における脂質感知機構を明らかにした。

GIP-GFP マウスを用いた免疫組織染色とフローサイトメトリー解析において、K 細胞は小腸のみに分布し、K 細胞数や K 細胞内 GIP 含有量は下部小腸に比較して上部小腸で高いことを明らかにした。また、脂肪酸や胆汁酸受容体の中で長鎖脂肪酸受容体 GPR120 のみが K 細胞数や GIP 含有量の多い上部小腸 K 細胞に高発現していた為、GPR120<sup>-/-</sup>と GPR120 部分アゴニストを用いて、糖負荷試験とラード負荷試験を行った。ラード負荷後の GIP 分泌量が、GPR120<sup>-/-</sup>および GPR120 部分アゴニスト前投与群で対照群に比較して有意に低下した事から、脂質に誘導される GIP 分泌において、GPR120 が関与することが示された。

以上の研究は、K 細胞からのインクレチンである GIP の分泌機序解明に貢献し、糖尿病学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 2 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降