

京都大学	博士（薬科学）	氏名	市村 敦彦
論文題目	Physiological functional of free fatty acid receptor GPR120 (遊離脂肪酸受容体GPR120の生理機能に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
近年、GPR40ファミリー（GPR40, 41, 43）, GPR84, そしてGPR120の遊離脂肪酸を天然リガンドとする受容体群が見出された。これら遊離脂肪酸受容体群の発見により、脂肪酸は必須の栄養成分であるだけでなく、シグナル伝達物質としても働くという新たな認識が加わった。更に、見出された各脂肪酸受容体はそれぞれリガンド、組織分布の特徴が際立って異なることから、各受容体は異なる生理機能を司っていることが想定されている。特にGPR120は、消化管に発現しGLP-1の分泌を制御するだけでなく、マクロファージに発現し、食餌性のω3系脂肪酸(DHAやEPA)の抗炎症作用を調節していることが示されるなど、生体ホメオスタシスとのコミュニケーションという観点からその生理、病態における役割が注目されている。その一方で、GPR120の脂肪組織での機能や、全身のエネルギー代謝における生理機能は十分に解析されていなかった。そこで、GPR120欠損マウスの表現型及び、ヒトにおけるGPR120の遺伝子多型と受容体機能を解析することにより、GPR120の生理機能の解明を試みた。			
第一章 GPR120欠損マウスの表現型解析			
申請者は、GPR120欠損マウスを作出し、その表現型を解析した。GPR120欠損マウスは、通常餌給餌下では野生型マウスと大きな差は見られなかったが、高脂肪食負荷下において、野生型と比較して体重が増加し、より重度の肥満状態を呈することを見出した。また、各組織重量を比較した結果、脂肪組織及び肝臓の重量が顕著に増加していることが分かった。これらの組織について更に詳細に解析したところ、脂肪組織においては、脂肪細胞が肥大すると共に、脂肪組織に多数のマクロファージが浸潤していることを見出した。また、肝臓においては、多量のトリグリセリドが蓄積し、脂肪肝を呈していた。これらの表現型解析により、GPR120の欠損は、食餌誘発性の肥満と脂肪肝を引き起こすことが明らかとなった。次に、肥満と強く相関していることが知られている糖尿病との関連を調べるため、GPR120欠損マウスのインスリン及びグルコースに対する反応を野生型マウスと比較した。その結果、GPR120欠損マウスでは、インスリンの感受性が低下し、インスリン耐性と耐糖能低下が見られ、糖代謝異常をきたしていることが明らかとなった。以上の結果から、GPR120が、脂質及び糖質の代謝に対して重要な働きを担っていることが示唆された。			
第二章 GPR120欠損に於ける病態メカニズム			
GPR120欠損が様々な代謝異常を惹起することから、そのメカニズムを解明するため以下の研究を行った。GPR120欠損マウスでは全身でのインスリン感受性が低下していることから、末梢組織におけるインスリンシグナルを調べた。その結果、GPR120欠損マウスの脂肪組織及び肝臓において、インスリンによるAktの活性化が顕著に低下していた。そこで、この分子機構を調べるため、マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現プロファイリングを行った。マイクロアレイデータのパスウェイ解析等の結果から、脂肪組織においてはFabp4			

等の脂肪細胞分化マーカーと、インスリン受容体等のインスリンシグナル関連分子の発現が低下していることを見出した。肝臓においてもインスリンシグナル関連分子の発現が低下している一方で、脂質合成律速酵素遺伝子であるScd1等の脂質合成酵素や脂質トランスポータCd36の発現が顕著に亢進していた。以上のことから、GPR120欠損マウスにおける脂肪肝は肝臓における脂質合成亢進に、また、糖代謝異常は脂肪組織及び肝臓におけるインスリンシグナル分子の発現低下によるインスリンシグナル減弱に依るものと考えられた。また、線維芽細胞を用いた分化誘導実験結果と上述のマイクロアレイの結果から、GPR120が脂肪細胞の正常な分化に必要であることが示された。更に、肝臓では内因性に発現していないGPR120の欠損によって脂肪肝が惹起されるメカニズムの解明を試みた。GPR120は脂肪組織においては高発現していること、及び脂肪組織においては形態及び遺伝子発現が大幅に変化していたことから、脂肪組織における変化が肝臓での変化を引き起こしたのではないかと推定された。これまで報告されている脂肪細胞由来の分泌ホルモンであるレプチンやアディポネクチン等のアディポサイトカインの発現や血中濃度は正常、或いは大きく変化していなかった。そこで、脂質ホルモンとして近年同定されたパルミトレイン酸に注目した。脂肪組織由来の遊離パルミトレイン酸は肝臓に作用し、肝臓での脂質合成を低下させることが報告されている。そこで、パルミトレイン酸を含めた脂質について、網羅的なプロファイリングを行った結果、脂肪組織と血中における遊離脂肪酸画分中のパルミトレイン酸が特徴的に低下していることを見出した。また、GPR120欠損マウスの脂肪組織におけるパルミトレイン酸の合成律速酵素遺伝子の発現は有意に低下していた。以上の研究結果から、GPR120は脂肪細胞の正常な分化に必要であり、脂肪組織で産生される脂質ホルモンを介して肝臓における脂質代謝を制御し、これにより全身の代謝を調節していると考えられる。

GPR120のヒトにおける生理機能や病態との関係については今まで報告されていなかったが、フランス、パスツール研究所のDavid Meyre博士らの研究により、ヒトGPR120遺伝子多型と肥満との相関が大規模に探索された。その結果、ヒトGPR120細胞内第3ループに位置する一塩基多型が強く肥満と相関していることを見出された。そこで、共同研究を行い、この多型が受容体機能に与える影響を*in vitro*実験系で検討した。リガンド依存的なシグナル伝達及び生理機能を、強制発現細胞系を用いて調べた結果、肥満と相関している変異受容体では、受容体機能が有意に低下していることが明らかとなった。以上の結果から、マウスだけでなくヒトにおいても、GPR120の機能低下が肥満といった代謝疾患を引き起こす可能性が示された。

以上の一連の研究により、遊離脂肪酸GPR120が全身のエネルギー代謝において非常に重要であることが示された。本研究結果が、遊離脂肪酸受容体機能の解明及び、肥満や糖尿病といった生活習慣疾患の病態理解とその治療に役立つことが期待される。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、脂肪酸受容体GPR120の生理機能及び病態との関係を解明することを目的に、GPR120のノックアウトマウスの表現型とそのメカニズムの解析、及び、強制発現細胞株を使用したヒト変異型GPR120の解析を行った論文である。

GPR120は、腸管でのGLP-1の分泌を制御や、マクロファージでの食餌性の ω 3系脂肪酸(DHAやEPA)の抗炎症作用調節などの重要な生理機能を担っており、その生理及び病態における役割が注目されている一方、GPR120全身のエネルギー代謝における生理機能は十分に解析されていなかった。申請者は、GPR120欠損マウスの表現型及び、ヒトにおけるGPR120の遺伝子多型と受容体機能を解析することにより、GPR120の生理機能の解明を試みた。

申請者は、GPR120欠損マウスを作出し、その表現型を解析した。GPR120欠損マウスは、高脂肪食負荷下において、野生型と比較して体重が増加し、より重度の肥満状態を呈することを見出した。また、脂肪組織及び肝臓の重量が顕著に増加していることが分かった。これらの組織について更に詳細に解析したところ、脂肪組織においては、脂肪細胞が肥大すると共に、脂肪組織に多数のマクロファージが浸潤していることを見出した。また、肝臓においては、多量のトリグリセリドが蓄積し、脂肪肝を呈していた。これらの表現型解析により、GPR120の欠損は、食餌誘発性の肥満と脂肪肝を引き起こすことが明らかとなった。更に、GPR120欠損が糖代謝へ及ぼす影響を調べた結果、GPR120欠損マウスでは、インスリンの感受性が低下し、インスリン耐性と耐糖能低下が見られ、糖代謝異常をきたしていることが明らかとなった。申請者は、マイクロアレイ及び脂質の網羅的プロファイリングに依るメカニズム解析により、GPR120は脂肪細胞の正常な分化に必要であり、脂肪組織で産生される脂質ホルモンを介して肝臓における脂質代謝を制御し、これにより全身の代謝を調節していることを明らかにした。

また、申請者は、共同研究により強く肥満と関連していることが見出された、ヒトGPR120細胞内第3ループに位置する一塩基多型が受容体機能に与える影響を*in vitro*実験系で検討した。リガンド依存的なシグナル伝達及び生理機能を、強制発現細胞系を用いて調べた結果、肥満と関連している変異受容体では、受容体機能が有意に低下していることが明らかとなった。以上の結果から、マウスだけでなくヒトにおいても、GPR120の機能低下が肥満といった代謝疾患を引き起こす可能性が示された。

よって本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年2月25日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成23 年 10 月 1日以降