

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790249

研究課題名(和文) 脂肪酸受容体 GPR120 の肺組織における生理機能解析

研究課題名(英文) Physiological characterization of GPR120 in lung

研究代表者

原 貴史 (Hara, Takafumi)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：90546722

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000 円、(間接経費) 1,020,000 円

研究成果の概要(和文)：脂肪酸によって活性化される受容体の一つに GPR120 と呼ばれる分子が存在し、脂肪や腸管でエネルギー代謝との関連が知られている。他方、肺組織における発現も確認されているがその機能は不明である。肺と脂肪酸との関連では、呼吸の際に肺胞の伸縮を担うサーファクタントプロテインと呼ばれる分子の構成成分の一部に脂肪酸が含まれていることが知られている。今回 GPR120 の遺伝子改変動物を用いた研究から、肺において GPR120 がサーファクタント分泌細胞に発現しており、その分泌に関与していることを示唆する結果が示された。

研究成果の概要(英文)：GPR120 is one of the fatty acid-activated receptors. GPR120 expressed in adipose tissue and intestine is known to act as the differentiation of adipocytes and incretin hormone secretion, respectively. On the other hand, the function of GPR120 expressed in lung tissue remain to be clarified. Surfactant proteins that is necessary to the expansion and contraction of alveolus during respiration fatty acids are one of the content molecule. Our results using the GPR120 KO mice indicated that GPR120 is expressed surfactant secretion cells and might regulate surfactant secretion.

研究分野：薬学

科研費の分科・細目：薬理系薬学

キーワード：Lung Fatty acid GPCR

1. 研究開始当初の背景

脂肪酸はエネルギー源として重要な働きを担っているが、他方最近の研究によりシグナル伝達因子としての機能も明らかになりつつある。特に脂肪酸受容体と呼ばれるGタンパク質共役型受容体ファミリーは種々の脂肪酸によって活性化され疾患と密接に関連していることが報告されており、その機能と疾患メカニズムとの関連が注目されている。GPR120は、リガンド未知の新規Gタンパク質共役型受容体(GPCR)としてマウス及びヒトゲノムDNA中から単離された分子である。申請者らは、受容体の細胞内局在の変化を利用したリガンド探索からGPR120の内因性リガンドとして長鎖遊離脂肪酸を同定し、さらにいくつかの特異的化合物の同定にも成功している。これまでに腸管に発現するGPR120はインスリン分泌を制御するインクレチンの分泌に関与すること、マクロファージに発現するGPR120は炎症を抑制的に制御することによりインスリン抵抗性の軽減に寄与することが報告されている。他方、肺組織における発現も確認されているが、他の発現組織と比較しその発現は高いことが報告されているにも関わらず肺におけるGPR120の機能は未解明である。肺組織は、脂肪酸を原料とするサーファクタントプロテインとフォスファチジルコリンなどのリン脂質とによって構成される肺サーファクタントに満たされている。この肺サーファクタントは、肺胞の形態維持及び呼吸により吸入される抗原に対する防御という役割を担っている。サーファクタントの遺伝子改変マウスでは重篤な気道感染を示すことが知られており、喘息や慢性閉塞性肺炎患者等の呼吸器疾患ではサーファクタントの分泌低下と炎症性細胞の遊走・浸潤が確認されて

いる。このように肺サーファクタントは免疫応答にも深く関与し、肺の様々な機能に重要な役割を果たしていると考えられているが、その合成・分泌機構は未だ十分に解明されていない。従ってGPR120のあらたな生理機能の解明が肺疾患のメカニズム解析につながると思われてきた。

2. 研究の目的

肺におけるGPR120の機能を考える上で、肺における脂肪酸との関連に注目した。肺では、肺胞の伸縮に必須である肺サーファクタントプロテインの構成成分の一つに脂肪酸が含まれていることが知られている。サーファクタントの産生とその後の分解の過程において、脂肪酸が肺組織中で産生される可能性があるため、GPR120はこの脂肪酸によって活性化され機能していると考えられた。また、サーファクタントの一部は肺における炎症応答と密接に関連していることが報告されており、病態の調節に重要な役割を果たしていることから、GPR120もこの役割の一部を調節する可能性が考えられた。

以上のことから肺におけるGPR120の機能をサーファクタントの調節と制御の観点から解析することを目的とした。

3. 研究の方法

肺クララ細胞の細胞株であるNCI-H441細胞株を用いてGPR120のmRNA発現と脂肪酸によりERKが活性化されることを明らかとしつつある。そこでNCI-H441細胞株をモデルとしてGPR120がサーファクタントの合成分泌どのように関与しているのかを明らかにする。タンパク質レベルでのGPR120の発現、また内因性リガンドである種々の長鎖脂肪酸や、申請者等が同定した特異的化合物を利用

してGPR120特異的なシグナル経路を詳細に評価した。GPR120の特異的抗体、遺伝子改変動物を用いて、GPR120の肺における機能解析を行った。特異的抗体を用いて、肺組織中のGPR120の発現部位を評価すること。また結果を基に遺伝子改変動物を用いて、病態モデルマウス(アルブミン吸引による喘息モデル)を作成しGPR120の肺の機能を評価した。

4. 研究成果

特異抗体により肺組織切片を染色したところ、肺のクララ細胞のマーカータンパク質であるCC10とGPR120が共発現していることが示唆された。またNCI-H441細胞株を用いた検討からは、脂肪酸による刺激によって細胞内のサーファクタントプロテイン量に変化が生じることが明らかになった。しかしながら、この細胞株におけるサーファクタントの分泌は、分泌されるタンパク質量が低いことにより、本細胞株では適切に評価することができなかった。またシグナル伝達機構の評価として、リガンド刺激による細胞外シグナル調節キナーゼ(ERK)のリン酸化を評価したところ、脂肪酸に加えて合成アゴニストによりリン酸化が促進されたことから、確かにNCI-H441細胞ではGPR120を介したシグナル伝達機構が機能していることが明らかとなった。さらに、遺伝子改変動物を用いて、アルブミン吸入による喘息モデルを作成し、肺胞洗浄液中のサーファクタントプロテイン量を評価することで産生分泌機能への役割を評価したところ、野生型と比較して、遺伝子改変マウスではサーファクタントプロテイン量に変化が確認された。以上より、GPR120における

肺の機能として病態時におけるサーファクタントの生成過程への関与が示唆された。しかしながら、そのシグナル伝達メカニズムや他の肺組織の構成細胞における発現や機能、また肺組織に存在する炎症細胞との相互作用などGPR120が関与する可能性のあるメカニズムが複数存在する状況であり、今回の結果から示唆されたメカニズムとどのように協調的な働きを担っているかは、疾患メカニズムとの観点からも非常に興味深い。しかしながら、肺サーファクタントの調節メカニズムについてはこれまでに十分に解明されていなかったことから、GPR120がこのメカニズムの一端を担っているという可能性は今後の肺疾患のメカニズム研究に非常に有益な結果をもたらすものと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計1件)

Hara T, Kashihara D, Ichimura A, Kimura I, Tsuimoto G, Hirasawa A. Role of free fatty acid receptors in the regulation of energy metabolism. *Biochim Biophys Acta*. 2014. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕 (計0件)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

(原貴史)

研究者番号：90546722

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：