

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14414

研究課題名(和文)機能性食品成分-GPR30システムによる腸管免疫を介した血管機能改善機構の解明

研究課題名(英文)The role of the novel sex steroid membrane receptor GPR30 on metabolic homeostasis.

研究代表者

北野 隆司(大植隆司)(Ohue-Kitano, Ryuji)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・特任講師

研究者番号：90791583

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文):本研究において、エストロゲンの新規細胞膜上受容体であるGPR30は食事誘導性肥満時の脂質代謝調節に関与することを見出した。その作用機序として、腸管からの脂質吸収の抑制に寄与する可能性が示唆された。なお、それらの機能発現に関しては、雌雄間で異なる様子が認められた。本研究成果は、GPR30が肥満症や糖尿病などの代謝性疾患の予防・改善に向けた新たな標的分子となり、効果的治療戦略の開発に大きく貢献できると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで肥満症や糖尿病などの代謝性疾患におけるエストロゲンの新規細胞膜上受容体GPR30の病態生理学意義は不明であったが、本研究にて、腸管のGPR30が脂質代謝調節に関与する可能性が明らかにされた。従来のエストロゲン受容体ERを介した脂質代謝改善作用に加え、本研究より明らかになったGPR30もまた、脂質異常症の新たな治療標的分子となり得る。これらの成果は、性ホルモンが代謝機能調節に関与することを示しており、今後、GPR30を標的とした新規治療薬創出だけでなく、大豆イソフラボンやエクオール等を含めた高機能性食品の開発を通じて、代謝性疾患の新たな予防・治療戦略の確立へと繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文):The present study provided the first evidence that GPR30, a novel receptor for estrogen on the plasma membrane, is involved in the regulation of lipid metabolism during diet-induced obesity. GPR30 might contribute to the suppression of lipid absorption from the intestinal tract, and these were dependent on gender-specific. These findings could contribute to developing novel effective therapeutic strategies, and future basic and clinical research elucidating the pathophysiological significance of GPR30 will reveal for new avenues for preemptive medicine for obesity and metabolic diseases.

研究分野：内分泌・代謝学

キーワード：腸内細菌代謝物 エクオール GPR30 代謝性疾患 大豆イソフラボン 臓器連関

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、肥満症・糖尿病に伴う心血管病 (CVD) が増加しており、その進展機序の解明と効果的治療法の確立は急務である。本邦の疫学調査から、植物性エストロゲンアナログである大豆イソフラボン (Daidzein: DZ) には、エストロゲンと同様、心筋梗塞や脳梗塞等のリスク軽減効果が報告されている。その作用機序として、エストロゲン受容体 (ER) を介した LDL の減少と VLDL/HDL の増加による脂質異常改善作用や血圧降下作用等が示唆されている。

一方、DZ を含む植物性ポリフェノールは、小腸での吸収効率が約 10% 程度と極めて低く、その多くが、腸内細菌によって資化・代謝されることが知られている。腸内細菌代謝物は、血中に移行することで、宿主の生理機能調節とより直接的に関与することから、DZ 摂取による CVD リスク改善効果には、腸内細菌代謝物の寄与が推察される。近年、DZ は、特定の腸内細菌の代謝により、(S)-エクオール (Equol: EQ) へと変換され、DZ と比し、ER に効率的に結合することで、高いエストロゲン様作用を発揮することが報告された。ところが、ヒトの EQ 産生能は、腸内での EQ 産生菌保有の有無にて規定され、EQ 産生菌保有者 (EP) と非保有者 (ENP) が存在することから、DZ 摂取による CVD リスク改善効果等の疾患感受性には、EQ 産生能の影響が強く指摘される。我々もこれまでに、日本人肥満症では、EP 率が健常者より低値であること、加えて EQ 投与による介入研究から、特に女性の ENP において LDL と動脈硬化指標・CAVI の顕著な改善効果を認めてきた (Clin Endocrinol, 2013)。ところが、DZ 摂取による CVD リスク改善効果において、EQ 産生に伴う腸内環境 (腸内細菌叢の菌組成や機能特性) の変動プロファイルや、腸内での DZ や EQ の認識機構とそれに続く機能発現を含めた詳細な分子機序は明らかにされていない。

エストロゲンの機能発現に関して、従来の ER を介した作用に加え、近年、新規エストロゲン受容体である膜型脂溶性リガンド受容体・GPR30 による新たな作用機序が示唆されている。例えば、血管平滑筋細胞では、エストロゲン刺激に対する細胞の増殖・遊走に関して、ER- α は促進する一方、GPR30 は抑制する作用を示す等 (Hypertension, 2016)。GPR30 は、従来の「エストロゲン-ER axis」のみでは説明できない多面的なエストロゲンの作用を反映する受容体として再定義され始めている。

そこで本研究では、DZ 摂取や EQ 産生による CVD リスク改善効果の詳細な分子基盤を解明する一環として、腸管のエストロゲン受容体 GPR30 を介した代謝制御メカニズムの解明を目指す。

2. 研究の目的

肥満症や糖尿病などの代謝性疾患において性ステロイドホルモンの関与が示唆されている。それらの作用機序として、これまでエストロゲン受容体を介した作用が報告されているが、新たに発見されたエストロゲンの新規細胞膜上受容体 GPR30 の病態生理学的意義は不明であり、GPR30 を介した代謝表現型に関しては、雌雄における差異の影響を含めて統一的な見解が得られていない。また、近年の報告から、GPR30 は腸内分泌ホルモンの分泌制御に関与することに加え、植物性エストロゲンアナログ・EQ は膵 β 細胞に直接作用してインスリン分泌に影響することが知られているなど、「EQ-GPR30」は、糖代謝への関与が示唆されている。一方、我々は、日本人肥満症では、EQ 投与による介入研究から、特に女性において LDL と動脈硬化指標・CAVI の顕著な改善効果を認めてきた。ところが、EQ による脂質代謝への影響に関して、その詳細な分子メカニズムは明らかにされていない。

そこで本研究では、腸内細菌代謝物 EQ による CVD リスク改善効果の新規な分子基盤を解明する一環として、エストロゲン受容体 GPR30 に着目し、代謝機能調節における GPR30 の役割に関して、各種動物試験ならびに細胞実験にて評価するとともに、特に脂質代謝への影響を検討した。

3. 研究の方法

GPR30 を介した代謝制御メカニズムを明らかにするために、*Gpr30* 遺伝子欠損マウスを対象とした代謝表現型の解析を実施した。ゲノム編集 (CRISPR/Cas9) により *Gpr30* 遺伝子欠損を導入したファウンダーマウスより、ヘテロ欠損型系統を樹立し、同腹仔を対象とした各種食事負荷試験による体重変動や血液生化学等の代謝指標を網羅的に解析した。次に、GPR30 を介した代謝制御機構をより詳細に検討するために、GPR30 強制発現細胞株を構築し、内因性エストロゲン (17 β -estradiol; E2) あるいは、植物性エストロゲンアナログ (DZ・EQ) による GPR30 への親和性を評価するとともに、細胞内シグナル解析を実施した。

4. 研究成果

通常食摂取時においては、野生型マウス (WT) と *Gpr30* 遺伝子欠損マウス (GPR30KO) 間で、雌雄ともに体重変動や組織重量ならびに各種代謝指標において、有意な差異は認められなかった。その一方で、高脂肪食負荷時においては、GPR30KO マウスにおいて、有意な体重増加が認められた。特に、雄性マウスにおいてその傾向は顕著であった。加えて、雄性 GPR30KO マウスにおいては、血中中性脂肪濃度は有意な高値を示していたことから、GPR30 は食事誘導性肥満時の脂質代謝制御に関与している可能性が示唆された。実際に、OLTTの結果から、雄性 GPR30KO マウスでは腸管からの脂質吸収が増加することが認められた。GPR30 下流シグナル

については、評価系あるいは発現組織の違いやcAMP産生機序および細胞内Ca²⁺濃度に応じて、共役するGタンパク質(Gi, Gq, Gs)に関する統一的な見解が得られていなかった。そこで、我々はE2やDZおよびEQの結合に伴う下流シグナルに関して多面的な解析を進めた結果、特定のシグナルが関与する可能性を見出した。

以上より、GPR30は食事誘導性肥満時の脂質代謝調節に関与することを見出し、その作用機序として、腸管からの脂質吸収の抑制に寄与する可能性が示唆された。一方、それらの機能発現に関しては、雌雄間で異なる様子が認められたことから、雌においては特にERとの関連による影響が推察された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kimura I, Miyamoto J, Ohue-Kitano R, Watanabe K, Yamada T, Onuki M, Aoki R, Isobe Y, Kashiwara D, Inoue D, Inaba A, Takamura Y, Taira S, Kumaki S, Watanabe M, Ito M, Nakagawa F, Irie J, Kakuta H, Shinohara M, Iwatsuki K, Tsujimoto G, Ohno H, Arita M, Itoh H, Hase K.	4. 巻 367
2. 論文標題 Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eaaw8429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1126/science.aaw8429	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyamoto J, Ohue-Kitano R, Mukouyama H, Nishida A, Watanabe K, Igarashi M, Irie J, Tsujimoto G, Satoh-Asahara N, Itoh H, Kimura I.	4. 巻 116
2. 論文標題 Ketone body receptor GPR43 regulates lipid metabolism under ketogenic conditions.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 23813-23821
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1073/pnas.1912573116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohue-Kitano R, Taira S, Watanabe K, Masujima Y, Kuboshima T, Miyamoto J, Nishitani Y, Kawakami H, Kuwahara H, Kimura I.	4. 巻 11
2. 論文標題 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)propionic acid produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic acid by gut microbiota improves host metabolic condition in diet-induced obese mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 E1036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.3390/nu11051036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kimura I, Ichimura A, Ohue-Kitano R, Igarashi M.	4. 巻 100
2. 論文標題 Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physiological Reviews	6. 最初と最後の頁 171-210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 大植隆司、平さつき、木村郁夫	4. 巻 95
2. 論文標題 プロバイオティクス・プレバイオティクス臨床応用の現状 肥満、2型糖尿病	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床と研究	6. 最初と最後の頁 51-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 大植隆司、平さつき、木村郁夫	4. 巻 1
2. 論文標題 短鎖脂肪酸の産生機序と生理機能調節	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 食品機能性脂質の基礎と応用	6. 最初と最後の頁 76-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計21件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 北野 (大植) 隆司、後藤剛、高橋信之、浅原哲子、河田照雄、木村郁夫
2. 発表標題 肥満症・代謝性疾患における食由来代謝物と脂肪酸受容体の役割
3. 学会等名 日本肥満学会第40回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北野 (大植) 隆司、宮本潤基、五十嵐美樹、入江潤一郎、浅原哲子、伊藤裕、木村郁夫
2. 発表標題 ケトジェニック環境下におけるGPR43の機能的意義の解明
3. 学会等名 第37回内分泌代謝学サマーセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大植隆司
2. 発表標題 細胞膜上性ステロイドホルモン受容体を介した代謝機能制御
3. 学会等名 生理学研究所2018年度研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北野隆司
2. 発表標題 食由来成分を基質とした腸内細菌代謝物による宿主のエネルギー代謝制御
3. 学会等名 第36回内分泌代謝学サマーセミナー-YECシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北野隆司、後藤剛、岸野重信、小川順、日下部徹、島津章、河田照雄、木村郁夫、浅原哲子
2. 発表標題 3系多価不飽和脂肪酸由来乳酸菌代謝物によるGPR40を介した抗炎症性M2型マクロファージの分化誘導と腸内環境制御
3. 学会等名 第22回日本心血管内分泌代謝学会学術総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----