

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11514

研究課題名(和文) 免疫調節におけるトリプトファン感知受容体GPR142の役割の検討

研究課題名(英文) Roles of tryptophan-sensing receptor GPR142 in immune regulation

研究代表者

岩倉 浩 (Iwakura, Hiroshi)

和歌山県立医科大学・薬学部・教授

研究者番号：20378615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：高度肥満者の胃において、GPR142発現が炎症性サイトカイン発現と相関しており、グレリン分泌細胞株MGN3-1細胞に対してサイトカイン添加を行うとGPR142発現が上昇することを見出した。GPR142シグナルが炎症調節に関わる可能性を、GPR142KOマウスを用いて、いくつかの消化管あるいは全身の炎症モデルで検討した。デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)腸炎モデル、エタノール投与胃炎モデル、全身性LPS投与モデルでは、野生型とノックアウト群で炎症レベルに有意な差は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの検討により、トリプトファン感知受容体GPR142の発現レベルが、炎症性サイトカインによって調節を受けることが明らかとなった。トリプトファンはそのキヌレニン系路による代謝物が免疫調節作用を持つことが知られており、トリプトファン濃度の感知が炎症調節に関わる可能性が考えられる。今回の炎症モデルでは、GPR142シグナルが炎症に与える影響は確認されなかったが、炎症によってGPR142発現が調節を受ける意義の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：We found that GPR142 expression levels in the stomach of morbidly obese patients were correlated with those of proinflammatory cytokines. Moreover, GPR142 expression level was increased with addition of proinflammatory cytokines to the medium in ghrelin-producing cell line, MGN3-1 cells. However, the degree of inflammation in the three different mice models, namely colitis with DDS, gastritis with ethanol, and LPS-induced inflammation models, were not affected by deletion of GPR142 gene.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：GPR142

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

GPR142 はオーファン受容体としてその存在が知られていたが、最近、その最も強いリガンドが芳香族アミノ酸、トリプトファンであることが明らかとなった。GPR142 は、膵臓や消化管においてその発現が認められるが、中でも膵内分泌細胞や消化管内分泌細胞で高発現していることが報告されている。GPR142 によるトリプトファン感知により、膵島ホルモンのうち、インスリンやグルカゴン分泌が強く刺激されること、消化管内分泌細胞においては、GLP-1 や GIP 分泌が刺激されることが報告されている。我々自身もこれまでの検討により、GPR142 がトリプトファンによるインスリン分泌刺激に関わるが、肥満動物においては、CaSR によるトリプトファン感知シグナルの意義も大きくなることを報告してきた(上田、岩倉ら、PlosOne 2018)。一方、以前の検討で、GPR142 が胃のグレリン分泌細胞でも高発現しており、トリプトファンが GPR142 を介して、グレリン分泌を強力に刺激することも見出ししていた(小山、岩倉ら、Endocrinology 2016)。

トリプトファンは上記のように、それ自身が GPR142、あるいは CaSR のリガンドとなって生体機能調節に関わることが最近明らかになってきたが、以前より、トリプトファンはセロトニン系路、キヌレニン系路という二つの代謝系路によって代謝されるが、これらの代謝産物は多くの生理活性を持つことが知られている。セロトニン系路で産生される、セロトニンやメラトニンは神経伝達物質やホルモンとして働き、これらの受容体のアゴニストやアンタゴニスト、再取り込み阻害薬などは、精神疾患や消化器疾患などの治療薬として臨床応用されている。一方で、キヌレニン系の代謝物は、免疫調節に関わることが報告されており、キヌレニン系路の律速酵素である、IDO1 (インドールアミン-2, 3-ジオキシゲナーゼ 1) が癌の免疫療法の標的分子として注目され、その阻害薬の開発が進んでいる。

我々は、GPR142 発現を、肥満者の胃で検討する中で、その発現が炎症マーカーと相関することを見出し、GPR142 シグナルが炎症調節に関わる可能性を考えた。GPR142 と炎症の関連については、これまでに、GPR142 アンタゴニストがマウスの関節炎モデルを改善するという報告があるが(Murakoshi ら、J Recept Signal Transduct Res 2017)、その作用機序の詳細などについては明らかになっておらず、キヌレニン系路との関わりについても十分解明されていなかった。

## 2. 研究の目的

今回の研究の目的としては、GPR142 シグナルが炎症に与える影響、特にキヌレニン系路との相互作用を含めた調節機構の可能性について明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

### (1) 動物

GPR142 シグナルが、トリプトファン吸収や炎症に与える影響を検討するため、GPR142 ノックアウトマウスおよび野生型 (C57BL6) マウスを用いて検討を行った。GPR142 ノックアウトマウスはジャクソン研究所より輸入し、繁殖の上研究に使用した。すべての動物実験に関しては、和歌山県立医科大学動物実験委員会の承認を受けた後行った。

26 ~ 30 週齢のマウスを用いて、3%あるいは2%デキストラン硫酸 Na 溶液を7日間経口投与。最終日1日絶食後に採血、解剖を行った。

44 週齢のマウスを用いて、4  $\mu$ l/g で99%エタノールを経口ゾンデにより単回投与。3時間後に採血、解剖を行った。

25 ~ 28 週齢のマウスを用いて、LPS 0.5  $\mu$ g/g を単回投与し、90分後に採血、解剖を行った。

### (2) 細胞実験

グレリン分泌細胞株については、以前我々が樹立した MGN3-1 細胞(岩倉ら、Endocrinology 2010)を用いた。培養液としては DMEM+10%FBS を用い、37 °C、CO<sub>2</sub> 10%のインキュベーターで培養を行った。添加実験に関しては、添加物を添加後、24時間インキュベートし、細胞より RNA を回収し、mRNA 発現量を定量 PCR 法によって検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 炎症性サイトカインによる GPR142 発現への影響の検討

炎症性サイトカインが GPR142 の発現に直接影響を与える可能性について、グレリン分泌細胞株 MGN3-1 細胞を用いて検討を行った。MGN3-1 細胞へ、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 を添加したところ、GPR142 発現は有意に上昇した。特に、TNF- $\alpha$  添加時により反応が明確であり、阻害剤添加により NF- $\kappa$ B 系路および、JNK 系路が関与していることが判明した。この結果により、GPR142 発現は、直接サイトカインによる発現調節を受けており、炎症下においてその発現が上昇することが示唆された。

## (2) GPR142 がトリプトファン吸収に与える影響の検討

炎症時には、トリプトファンの代謝経路であるキヌレニン系路が活性化され、キヌレニン系路の代謝産物が種々の免疫調節に働くことが知られている。GPR142 は炎症状態で発現が上昇することから、GPR142 がトリプトファンの吸収に影響を与え、間接的にトリプトファンの供給に影響を与えてキヌレニン系路を調節する可能性について検討を行った。GPR142 ノックアウトマウスに、トリプトファン溶液を経口投与し、15 分後に採血を行った。血中トリプトファン濃度は、野生型とノックアウトマウスのいずれにおいても有意に上昇したが、群間での有意な差は認められなかった。また、トリプトファンの吸収に関わる Slc6a19 の mRNA 発現は、上部および下部小腸で野生型とノックアウトマウスの間で差は無く、GPR142 が急性のトリプトファン吸収には関与しないことが示唆された。

## (3) GPR142 シグナルが腸管炎症に与える影響の検討

GPR142 が腸管免疫調節に関わる可能性を検討するため、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 腸炎モデルを用いて、腸管炎症を野生型および GPR142 ノックアウトマウスにおいて検討した。3%デキストラン硫酸ナトリウム溶液をマウスに 7 日間経口投与した。投与期間 7 日間のうち、GPR142KO マウスと野生型の間で、摂食量には有意な差は認めず、体重にも有意な差は認められなかった。大腸の長径を検討したが、これに関しても有意な差は認められなかった。濃度を 2%に下げて同様の検討を行ったが、やはり摂食量や体重にも差は認められなかった。

大腸での TNF 発現の検討も行ったが、DSS 投与によって TNF 発現は生食投与群と比較して有意に上昇していたが(図 1)、GPR142 ノックアウトマウスと野生型の間には明らかな差異は認められなかった。mRNA 発現レベルに大きな差異を認めなかった(図 2)ため、腸管の組織学的解析は行わなかった。

## (4) GPR142 が胃の炎症に与える影響の検討

GPR142 が胃において炎症調節に関わる可能性を検討するため、エタノール投与胃炎モデルでの検討を行った。血中トリプトファン濃度が野生型ではエタノール投与により低下する傾向 ( $P=0.052$ ) (図 3)が認められたが、GPR142 ノックアウトマウスではこの傾向が認められなかった。トリプトファン血中濃度は炎症によって低下することが知られているため、GPR142 ノックアウトマウスで炎症が軽減している可能性も考えて、胃における TNF 発現を検討したが、エタノール投与によっては、野生型、GPR142 の両群において有意な上昇を確認出来ず、両群間間に有意な差は認められなかった。GPR142 は胃においては、グレリン細胞でその発現を認めることから、グレリン発現やグレリン分泌に関しても検討を行ったが、胃グレリン mRNA 発現や、血中グレリン濃度、血中デスアシルグレリン濃度にも有意な差は認められなかった。

## (5) GPR142 が LPS 投与による炎症に与える影響の検討

GPR142 シグナルが、より全身的な炎症に与える影響の検討のために、マウスへ LPS の単回投与を行い、胃での炎症性サイトカイン発現を検討した。胃での TNF mRNA 発現、IL-6 mRNA 発現は GPR142 ノックアウトマウスにおいて、野生型と比較して有意な差を認めなかった。IDO1 mRNA 発現は、GPR142 ノックアウトマウスにおいて高い傾向はあり、GPR142 シグナルとキヌレニン系路の関連性を示唆する結果であった。

## (6) 総括

今回の検討では、炎症性サイトカインによって GPR142 発現が直接発現調節を受けることが明らかとなった。一方、GPR142 シグナルが炎症へ与える影響については、GPR142 ノックアウトマウスと野生型の間で、有意な差は認められず、GPR142 発現が炎症によって調節を受ける意義については未解明のままとなった。

GPR142 ノックアウトマウスの繁殖に時間を要したこともあり、繰り返しの実験が困難で、モデルの最適化が出来たとは言いがたい面もあり、今後、さらにモデルを最適化して、改めて、

図 1

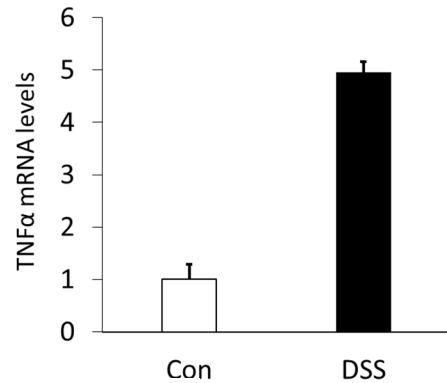


図 2

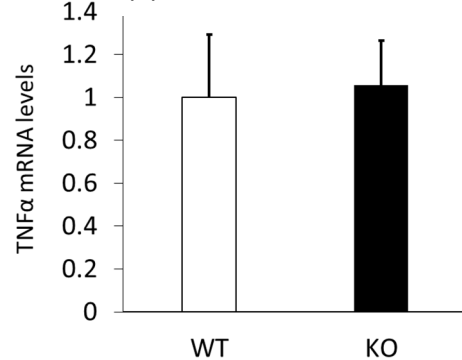
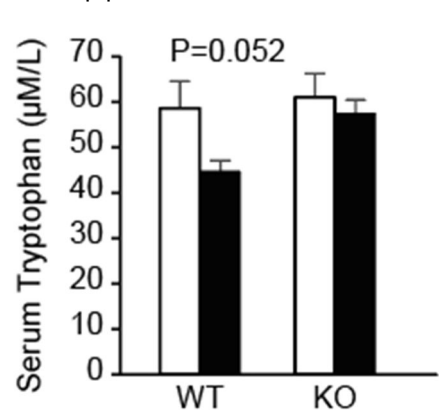


図 3



GPR14 の炎症への関与についての研究を進めていく予定である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Fukuda Naoki, Ojima Toshiyasu, Hayata Keiji, Katsuda Masahiro, Kitadani Junya, Takeuchi Akihiro, Goda Taro, Ueda Yoko, Iwakura Hiroshi, Nishi Masahiro, Yamaue Hiroki	4. 巻 36
2. 論文標題 Laparoscopic sleeve gastrectomy for morbid obesity improves gut microbiota balance, increases colonic mucosal-associated invariant T cells and decreases circulating regulatory T cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 7312 ~ 7324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-022-09122-z	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 Hayakawa Shunsuke, Tanaka Tatsuya, Ogawa Ryo, Ito Sunao, Ueno Shuhei, Koyama Hiroyuki, Tomotaka Okubo, Sagawa Hiroyuki, Tanaka Tomohiro, Iwakura Hiroshi, Takahashi Hiroki, Matsuo Yoichi, Mitsui Akira, Kimura Masahiro, Takahashi Satoru, Takiguchi Shuji	4. 巻 2022
2. 論文標題 Potential Role of TRPV4 in Stretch-Induced Ghrelin Secretion and Obesity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Endocrinology	6. 最初と最後の頁 1 ~ 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2022/7241275	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 Kaneko Kentaro, Tokuyama Yuki, Taniguchi Eriko, Abe Shimon, Nakato Junya, Iwakura Hiroshi, Sato Masaru, Kurabayashi Atsushi, Suzuki Hideyuki, Ito Akira, Higuchi Yuki, Nakayama Ryoko, Uchiyama Kimiko, Takahashi Hajime, Ohinata Kousaku	4. 巻 71
2. 論文標題 Rice Endoplasmic Protein-Derived Peptides, Rice-Ghrelin A and B, Stimulate Ghrelin Release in MGN3-1 Cells and Increase Plasma Acylated Ghrelin and Food Intake in Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 421 ~ 429
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jafc.2c05965	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 Hu Min, Asami Chikashi, Iwakura Hiroshi, Nakajima Yasuyo, Sema Ryouyuke, Kikuchi Tsuyoshi, Miyata Tsuyoshi, Sakamaki Koji, Kudo Takumi, Yamada Masanobu, Akamizu Takashi, Sakakibara Yasubumi	4. 巻 2
2. 論文標題 Development and preliminary validation of a machine learning system for thyroid dysfunction diagnosis based on routine laboratory tests	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Medicine	6. 最初と最後の頁 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s43856-022-00071-1	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 Tanikawa Kana, Kaneko Kentaro, Abe Shimon, Nakato Jyunya, Tokuyama Yuki, Odaka Sayano, Iwakura Hiroshi, Sato Masaru, Kurabayashi Atsushi, Suzuki Hideyuki, Makita Miki, Ikemoto Hiroyuki, Matsumura Shigenobu, Inoue Kazuo, Ohinata Kousaku	4. 巻 11
2. 論文標題 Wheat ghretrpins: novel ghrelin releasing peptides derived from wheat protein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 1144 ~ 1152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13124	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 Inaba Hidefumi, Ariyasu Hiroyuki, Iwakura Hiroshi, Kurimoto Chiaki, Takeshima Ken, Morita Shuhei, Furuta Hiroto, Hotomi Muneki, Akamizu Takashi	4. 巻 68
2. 論文標題 Distinct clinical features and prognosis between persistent and temporary thyroid dysfunctions by immune-checkpoint inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 231 ~ 241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ20-0371	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 Inagaki Yuko, Takeshima Ken, Nishi Masahiro, Ariyasu Hiroyuki, Doi Asako, Kurimoto Chiaki, Uraki Shinsuke, Morita Shuhei, Furukawa Yasushi, Inaba Hidefumi, Iwakura Hiroshi, Shimokawa Toshio, Utsunomiya Tomoko, Akamizu Takashi	4. 巻 67
2. 論文標題 The influence of thyroid autoimmunity on pregnancy outcome in infertile women: a prospective study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 859 ~ 868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1507/endocrj.EJ19-0604	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 Kurimoto Chiaki, Inaba Hidefumi, Ariyasu Hiroyuki, Iwakura Hiroshi, Ueda Yoko, Uraki Shinsuke, Takeshima Ken, Furukawa Yasushi, Morita Shuhei, Yamamoto Yuki, Yamashita Shimpei, Katsuda Masahiro, Hayata Atsushi, Akamatsu Hiroaki, Jinnin Masatoshi, Hara Isao, Yamaue Hiroki, Akamizu Takashi	4. 巻 111
2. 論文標題 Predictive and sensitive biomarkers for thyroid dysfunctions during treatment with immune checkpoint inhibitors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1468 ~ 1477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14363	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 上田陽子、岩倉浩、土井麻子、松谷紀彦、森田修平、福田直城、早田啓治、尾島敏康、西理宏、古田浩人、山上裕機、赤水尚史、松岡孝昭
2. 発表標題 スリープ状胃切除術を施行した患者の胃サンプルにおけるトリプトファン受容体GPR142 発現と糖尿病パラメーターとの比較検討
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田陽子、岩倉浩、土井麻子、松谷紀彦、森田修平、福田直城、早田啓治、尾島敏康、西理宏、古田浩人、山上裕機、赤水尚史、松岡孝昭
2. 発表標題 腹腔鏡下スリープ状胃切除術を施行した患者における胃のGPR142発現と臨床パラメータとの比較検討
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田 陽子, 岩倉 浩, 西 理宏, 松岡 孝昭
2. 発表標題 グレリン細胞において炎症性サイトカインがGPR142発現に与える影響の検討
3. 学会等名 第43回 日本肥満学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 上田 陽子, 岩倉 浩, 西 理宏, 松岡孝昭
2. 発表標題 グレリン細胞において炎症性サイトカインがGPR142発現に与える影響の検討
3. 学会等名 第42会日本肥満学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 炎症性サイトカインによるトリプトファン受容体GPR142発現調節の検討
2. 発表標題 上田 陽子, 岩倉 浩, 坂東 美佳, 保田 知勢, 土井 麻子, 森田 修平, 有安 宏之, 西 理宏, 古田 浩人, 赤水 尚史, 松岡 孝昭
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoko Ueda, Hiroshi Iwakura, Asako Doi, Norihiko Matsutani, Shuhei Morita, Hidefumi Inaba, Hiroyuki Ariyasu, Naoki Fukuda, Keiji Hayata, Toshiyasu Ojima, Masahiro Nishi, Hiroki Yamaue, Takashi Akamizu
2. 発表標題 GPR142 Expression Levels Were Correlated with Plasma Ghrelin Levels and Heights in Morbidly Obese Patients
3. 学会等名 The Endocrine Society annual meeting 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上田 陽子, 岩倉 浩, 土井 麻子, 松谷 紀彦, 森田 修平, 稲葉 秀文, 有安 宏之, 福田 直樹, 早田 啓治, 尾島 敏康, 西 理宏, 古田 浩人, 山上 裕機, 赤水 尚史
2. 発表標題 肥満減量手術を施行した患者の胃サンプルにおけるトリプトファン受容体GPR142発現と糖尿病パラメーターとの比較検討
3. 学会等名 第63回糖尿病学会年次学術総会
4. 発表年 2020年



1. 発表者名 上田 陽子, 岩倉 浩, 土井 麻子, 松谷 紀彦, 森田 修平, 稲葉 秀文, 有安 宏之, 福田 直城, 早田 啓治, 尾島 敏康, 西 理宏, 古田 浩人, 山上 裕機, 赤水 尚史
2. 発表標題 肥満患者、糖尿病患者の胃における芳香族アミノ酸受容体GPR142発現の検討
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術総会WEB開催
4. 発表年 2020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
研究分担者	上田 陽子  (Ueda Yoko)  (80794809)	和歌山県立医科大学・薬学部・助教    (24701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------