

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390021

研究課題名（和文）遊離脂肪酸受容体 GPR120 の生理・病態機能の解明と創薬に関する研究  
研究課題名（英文）Physiological role of free fatty acid receptor GPR120.

## 研究代表者

平澤 明 (HIRASAWA AKIRA)

京都大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：70242633

研究成果の概要（和文）：申請者らがりガンドの同定に成功した脂肪酸受容体である GPR120 に関して、受容体リガンドとの相互作用解析と、創薬応用を目指した生理機能の解明とを行った。GPR120 とリガンドとの相互作用の *in silico* の予測システムを確立し、GPR120 に選択性を有する化合物の創製に成功した。GPR120 の生理機能の解明を遺伝子欠損マウスおよび、ヒト SNPs 解析により行った。マウスにおいては高脂肪食負荷により肥満、脂肪肝を示すこと、受容体機能を喪失する変異を持った SNPs が肥満との強い相関を有していた。以上の結果から、GPR120 が食事性の脂肪のセンサーとして、食事性の肥満に強く関与することが明らかになり、また GPR120 に選択的な化合物は今後、肥満糖尿病等に対する創薬応用への展開が期待される。

研究成果の概要（英文）：Free fatty acids provide an important energy source as nutrients, and act as signalling molecules in various cellular processes. Several G-protein-coupled receptors have been identified as free- fatty-acid receptors important in physiology as well as in several diseases. GPR120 functions as a receptor for unsaturated long-chain free fatty acids and has a critical role in various physiological homeostasis mechanisms such as adipogenesis, regulation of appetite and food preference. We showed that GPR120-deficient mice fed a high-fat diet develop obesity, glucose intolerance and fatty liver with decreased adipocyte differentiation and lipogenesis and enhanced hepatic lipogenesis. In human, we identified a deleterious non-synonymous mutation (p.R270H) that inhibits GPR120 signalling activity. Furthermore, the p.R270H variant increases the risk of obesity in European populations. We conclude that the lipid sensor GPR120 has a key role in sensing dietary fat and, therefore, in the control of energy balance in both humans and rodents.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2010 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
2011 年度	3,700,000	1,110,000	4,810,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：薬理学

## 1. 研究開始当初の背景

研究代表者らは近年ヒトゲノム情報より新規オーファン G 蛋白共役型受容体 GPR120 をクローニングし、その天然リガンドを同定する事に成功した (Hirasawa, et al., Nature Med. 2005)。この GPR120 受容体は腸管に局在する内分泌細胞に多く発現しており、長鎖不飽和遊離脂肪酸を天然リガンドとし、特異的に細胞内カルシウム、ERK (extracellular signal-regulated kinase) 等の細胞内シグナル伝達機構を活性化し、更に GLP-1(グルカゴン様ペプチド -1) 等の腸管生理活性ペプチドホルモンを分泌することを明らかとした。GLP-1 は現在知られている最も強力なインクレチン (消化管由来のインスリン分泌促進作用を持つ因子) の一つであり、また GPR120 は腸管に局在する遊離脂肪酸受容体であることから、この GPR120 — GLP-1 分泌機構は摂食行動、食欲中枢制御、インスリン分泌等の生体代謝・内分泌において重要な生理的役割を担う事が推定されている。

近年、GPR120 を含め、GPR40 ファミリー (GPR40, 41, 43) 等の遊離脂肪酸 (短鎖、中鎖、長鎖) を天然リガンドとする受容体群が見出され、“遊離脂肪酸受容体” という概念が確立されつつある。すなわち、遊離脂肪酸受容体群の発見

により従来の脂肪酸は“エネルギー源”という概念に“シグナル伝達物質”でもあるという新たな認識が加わった。更に、見出されてき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、腸管に豊富に局在しており、リガンドである脂肪酸が主として食事性であることから、“外界と生体ホメオスタシスとのコミュニケーション”という観点からも、その生理、病態における役割が注目されている。本申請では GPR120 受容体に関して研究グループが既に有する世界に先行する研究実績、豊富な各種 *in vitro*, *in vivo* の実験試料を最大限活かし、この新規遊離脂肪酸受容体 GPR120 を介する GLP-1 分泌機構に関して、細胞内情報伝達機構、生理、病態における機能を解明し、更にこの受容体を分子標的とする新たな治療薬創成の基盤を構築することを目的としている。

## 2. 研究の目的

本研究で明らかにする目標としては、1) GPR120 のシグナル伝達機構の詳細、2) GPR120 受容体に特異的化合物の探索とその薬理的な解析、3) GPR120 遺伝子改変動物

物を用いた生理機能解析であり、これらを総合して、GPR120 の生理学的機能の詳細を明らかにするとともに、肥満等に対する創薬標的としての可能性を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1) GPR120 シグナル伝達機構の解析

細胞内シグナル伝達系に関して、詳細な薬理的な解析を行った。特に GPR120 活性化に依存する細胞内 Ca イオン上昇に関して詳細な解析を各種変異型を用いて検討を行った。さらに、二量体の形成についても BRET をもちいて蛍光測定を行い検討した。

### (2) GPR120 受容体に特異的化合物の探索とその薬理的な解析

蛍光プローブを用いた特異的な結合実験により、新規化合物の GPR120 リガンドとしての活性評価を行った。さらに、ホモロジーモデリングとドッキングシミュレーションを用いた *in silico* の受容体-リガンド相互作用評価系を確立し、今までに合成してきた化合物の評価を行った。

### (3) GPR120 遺伝子改変動物を用いた生理機能解析

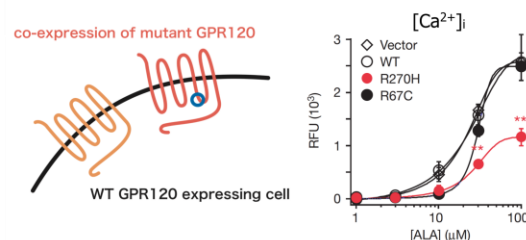
GPR120 遺伝子欠損マウスを作成しており、この動物の詳細な表現型の解析を行う。代謝制御及び組織レベルでの変化の検討と組織学的な解析を行う。特に、高脂肪食負荷マウスを作成し、マイクロアレイを用いた発現プロファイル解析および、脂質組成分析を用いた解析を行い詳細なメカニズムの検討を行う。

## 4. 研究成果

### (1) GPR120 シグナル伝達機構の解析

細胞内シグナル伝達系に関して、薬理的な解析を行った。特に細胞内 Ca イオンに関して詳細な解析を行った。後述するヒトの SNPs から見出された 270H 型の変異について検討を行ったところ、 $\alpha$  リノレン酸および、NCG-21 に対して細胞内 Ca イオンの上昇反応を全く示さなくなった。さらに、WT の発現細胞に 270H 変異型を一過性に導入した場合でも反応の抑制が認められたことから、この変異体が二量体化などを通じてシグナル伝達を抑制する可能性が示唆された。

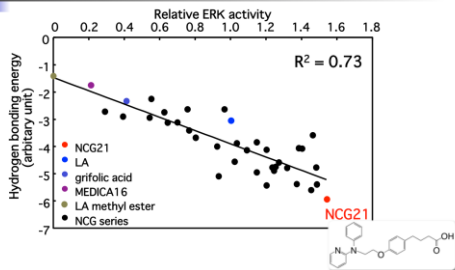
### R270H mutant GPR120 has dominant-negative-like effect



(2) GPR120 受容体に特異的化合物の探索とその薬理的な解析

GPR120 に特異性を有する可能性のある化合物として合成してきた NCG シリーズの化合物を中心に、*in silico* での結合エネルギーの評価と実際の活性の比較を行った。その結果、ERK の活性化と水素結合エネルギーとの間に強い相関を見出した。同様の解析を GPR40 に対しても行うことに成功し、それぞれの受容体に対して選択性を有する化合物を *in silico* 出予測できるシステムを構築することができた。また、GPR120 に対しては、NCG21 を、GPR40 に対しては NCG75 が最も選択性が高いことが予測されたため、これを薬理的に評価した。

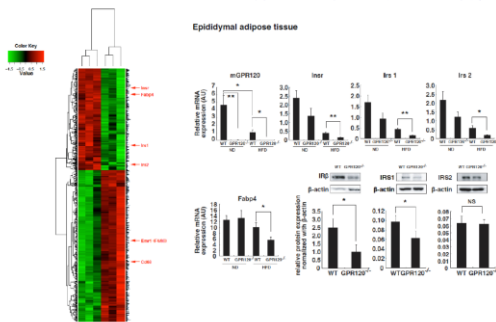
GPR120 リガンドの ERK 活性化と水素結合エネルギーの関係



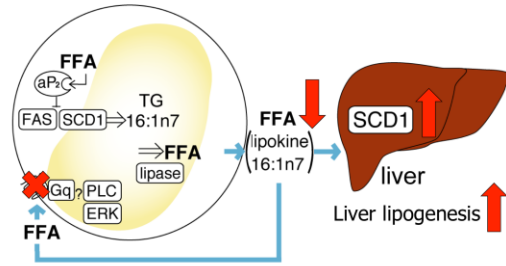
(3) GPR120 遺伝子改変動物を用いた生理機能解析

研究者らは、GPR120 遺伝子欠損マウスは通常食給餌下で、高脂肪食負荷により、肥満、脂肪細胞の肥大および脂肪肝を呈することを発見しており、マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現プロファイリング解析により、脂質代謝及び糖代謝の異常が脂肪や肝臓に於けるインスリンシグナル関連遺伝子群、脂質合成酵素群の発現の変化に依るものと推定している。フランスを中心とする欧州のゲノム解析センターと共同で、欧州の約2万人の肥満患者を対象とし、この脂肪酸センサー分子 GPR120 の肥満患者に於けるゲノム解析研究を行った。遺伝子を解析した結果として、GPR120 欠損マウスの高脂肪食負荷により肥満、糖尿病、脂肪肝の代謝異常を発症し、これが脂肪組織における分化の抑制と、脂肪酸合成の低下によることを明らかにした。

### マイクロアレイ解析(脂肪組織)



### GPR120の脂肪細胞における機能



また、GPR120 の SNPs 解析の結果、ヨーロッパ人において 1.3-3% 見られる R270H 型が、肥満と強く相関すること、R270H 型受容体タンパク質がリガンド刺激による細胞内 Ca<sup>2+</sup>シグナル伝達が起こさないことを見出した。

以上の研究より、GPR120 は食事性の脂肪のセンサーとして、食事性の肥満に強く関与することが明らかになった。また、「GPR120 受容体を標的とする治療薬創成への応用」の足がかりとして、GPR120-リガンド間相互作用の *in silico* 予測システム、GPR120 を含む脂肪酸受容体特異的蛍光プローブと、これを用いた相互作用の解析系、さらにはハイスループットスクリーニング系を確立し、GPR120 とリガンド間の相互作用を解明すると共に、選択的に GPR120 を活性化する新規化合物を得た。

### 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 7 件・全て査読あり)

① Ichimura A, Hirasawa A et al  
Dysfunction of lipid sensor GPR120 leads to obesity in both mouse and human.  
Nature. 483(7389): 350-354, 2012.  
doi:10.1038/nature10798

② Kimura I, Inoue D, Hirasawa A et al  
Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41).  
Proc Natl Acad Sci U S A. 108(19): 8030-8035, 2011.  
doi:10.1073/pnas.1016088108

③ Hara T, Hirasawa A et al  
Free fatty acid receptors FFAR1 and GPR120 as novel therapeutic targets for metabolic disorders.  
J Pharm Sci. 100(9): 3594-3601, 2011.  
doi:10.1002/jps.22639.

④ Sun Q, Hirasawa A et al  
Structure-Activity Relationships of GPR120 Agonists Based on a Docking Simulation.

Mol Pharmacol. 78(5): 804-810, 2010.  
doi:10.1124/mol.110.066324.

⑤ Miyauchi S, Hirasawa A et al  
Free fatty acid sensing in the  
gastrointestinal tract.

J Pharm Sci.112(1): 19-24, 2010.  
doi:10.1254/jphs.09R09FM

⑥ Hara T, Hirasawa A et al  
Novel selective ligands for free fatty  
acid receptors GPR120 and GPR40.

Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.  
380(3): 247-255, 2009.

doi:10.1007/s00210-009-0425-9

⑦ Ichimura A, Hirasawa A et al  
Free fatty acid receptors act as nutrient  
sensors to regulate energy homeostasis.  
Prostaglandins & Other Lipid Mediators 89:  
82-88, 2009.

doi:10.1016/j.prostaglandins.2009.05.00  
3,

[学会発表] (計 6 件)

① 平澤明、辻本豪三  
長鎖脂肪酸受容体 GPR120 の生理機能の解  
明と創薬応用  
第 85 回日本内分泌学会学術総会, 名古屋国  
際会議場(愛知県), 2012 年 4 月 19 日

② 平澤明、辻本豪三、原貴史  
薬物スクリーニングへのイメージング技術  
の応用  
日本薬学会第 132 年会, 北海道大学キャンパ  
ス(北海道), 2012 年 3 月 30 日

③ Takeuchi M, Sun Q, Hara T, Hirasawa  
A, Ishiguro M, Suzuki T, Miyata N,  
Tsujimoto G.  
Structure-activity relationships of GPR40  
agonists based on a docking simulation  
第 6 回国際受容体シンポジウム, 京都大学(京  
都府), 2011 年 4 月 2 日

④ 平澤明、原貴史、市村敦彦、宮内諭、木  
村郁夫、興水崇鏡、辻本豪三 (シンポジウム)  
脂肪酸受容体 GPR120 の代謝調節機構の解  
析  
第 83 回日本薬理学会年会 3 月 16 日, 大阪国  
際会議場(大阪府), 2010 年

⑤ 平澤明、辻本 豪三  
糖尿病と脂肪酸受容体ファミリー  
日本薬学会第 129 年会, 国立京都国際会議場  
(京都府), 2009 年 3 月 26 日

⑥ 平澤明、辻本豪三  
脂肪酸受容体ノックアウトマウスによる代  
謝疾患解析

第 82 回日本薬理学会年会, パシフィコ横浜  
(神奈川県), 2009 年 3 月 18 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平澤 明 (HIRASAWA AKIRA)  
京都大学・大学院薬学研究科・准教授  
研究者番号: 70242633

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

淡路 健雄 (AWAJI TAKEO)  
埼玉医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 60297546

興水 崇鏡 (KOSHIMIZU TAKA-AKI)  
自治医科大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 20392491

劉 寧 (NING LIU)  
京都大学・大学院薬学研究科・研究員  
研究者番号: 70464196

飯田 桂子 (IIDA KEIKO)  
京都大学・大学院薬学研究科・教務補佐  
研究者番号: 00422999