

(学位第8号様式)

No. 1

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	長澤 智隆 <span style="float: right;">1004</span>
審査委員	主査 佐賀大学 准教授 光武 進
	副査 佐賀大学 教授 濱 洋一郎
	副査 鹿児島大学 准教授 宮田 健
	副査 佐賀大学 教授 石丸 幹二
	副査 鹿児島大学 教授 侯 徳興
審査協力者	印
題目	FFAR4/インクレチンシグナリングに関わる非栄養性食品分子の新規機能の解明 ( The novel non-nutritive food functions via FFAR4/incretin signaling )
<p>近年、食品由来の脂肪酸、糖、ペプチド等が消化管内分泌細胞上の受容体を刺激し、インクレチンと呼ばれるホルモンの分泌に関わる事が明らかになってきた。その一つである長鎖脂肪酸受容体FFAR4(GPR120)は、小腸内分泌L細胞に発現し、食品中の脂肪酸に応答し、インクレチンの一つGLP-1の分泌を促進する。GLP-1は、脳下垂体や膵β細胞に作用し、インスリンの分泌促進、食欲抑制等、抗メタボリックシンドロームに働く事が知られている。これらGLP-1の働きは創薬のターゲットとして注目を集め、その分解酵素DPP4の阻害剤は、GLP-1の働きを増強する2型糖尿病の分子標的治療薬として上市されている。この事は、FFAR4/GLP-1シグナリングの活性化が、2型糖尿病を含むメタボリックシンドロームの治療/予防に有効である事を示している。FFAR4が発現する小腸内分泌細胞は、食事由来の様々な分子に暴露されている事が予想される。よって本研究では、脂肪酸以外の食品分子の中にFFAR4/GLP-1シグナリングを制御する分子が存在する可能性を検証した。</p> <p>FFAR4の活性化を検出する方法として、MAPキナーゼの一つであるERKのリン酸化や蛍光プローブを用いた細胞内Ca<sup>2+</sup>の変化を指標にした方法が存在したが、これら従来法は感度</p>	

1004

No. 2

と定量性に問題があった。そこで、本研究ではまずFFAR4の新規活性検出法の確立を行った。FFAR4はGタンパク質共役型受容体(GPCR)スーパーファミリーに属する。本研究では、GPCRのリガンドスクリーニング法の一つであるTGF $\alpha$  shedding assayをFFAR4に応用し、FFAR4-TGF $\alpha$  shedding assayを確立した。本法は、FFAR4の既知リガンドである $\alpha$ リノレン酸(ALA)を高感度かつ定量的に検出し、新規リガンドスクリーニングに適している事が示された。

次に、確立したスクリーニング方法を用いて、脂質関連分子や茶に含まれるポリフェノールを対象にFFAR4リガンドスクリーニングを行った。その結果、酵母や麴の細胞膜構成脂質の一部であるphytosphingosine (PHS)、微生物発酵茶に含まれるteadenol AがFFAR4の新規リガンドとなる事を見出した。PHSとteadenol AによるFFAR4の活性化はERKのリン酸化や細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇も引き起こし、これらの活性化はFFAR4アンタゴニストであるAH7614で阻害された。この事から、PHSとteadenol Aはリガンドとして直接FFAR4に作用している事が確認された。これまで報告された天然/合成FFAR4リガンドの多くがその分子内にカルボキシル基を持ち、FFAR4とリガンドの結合にはこのカルボキシル基が重要と考えられてきた。しかし興味深い事にPHSはカルボキシル基を持たず、これまで知られていない作用様式でFFAR4に作用する可能性が考えられた。本研究では、この作用様式を明らかにする為に、まずAutoDockを用いた*in silico*の実験系でPHSとFFAR4の結合部位を予測した。さらに予想結合部位のFFAR4アミノ酸変異体を作製し、*in vitro*の実験を行った。その結果、ALAはFFAR4の264番目のアルギニンと、PHSは249番目のグルタミン酸と相互作用する事が確認された。これらの結果は、PHSがカルボキシル基を持つこれまでのリガンドとは異なる全く新しい結合様式でFFAR4を活性化している事を示している。

本来FFAR4/GLP-1シグナリングは、高エネルギー分子である脂質の摂取に応答し、過剰なエネルギー摂取や蓄積を抑制する為のフィードバックシステムである。本研究で見出された新規FFAR4リガンドであるPHSやteadenol Aは、発酵食品や発酵茶に含まれ、日常的に摂取可能な分子である。本研究は、特定の食品分子が非栄養的にFFAR4/GLP-1シグナリングを活性化させ2型糖尿病の予防や生体恒常性の維持に寄与してきた可能性を示し、インクレチンシグナリングを介した新しい食品機能の存在を示唆している。また、FFAR4の新たなリガンド結合部位の同定は、これまでと違った創薬戦略を提唱する可能性もあり興味深い。

以上の事から、本研究は博士(農学)の学位論文として十分な価値を有すると判断した。