

(学位第9号様式)

No. 1

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	長澤 智隆 1004
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
実施年月日	令和4年1月13日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) (口答)・筆答	
<p>主査および副査は、令和3年1月13日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について諮問を行った。具体的には別紙の様な質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士(農学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者 氏名	長澤 智隆 1004
<p>[質問1] FFAR4の活性化を百分率で示しているがどのような計算をしているのか。</p> <p>[回答1] FFAR4の活性化によって培地中に遊離したアルカリフォスファターゼの活性を未処理の細胞全体に含まれるアルカリフォスファターゼの活性で除した値を百分率で表している。</p> <p>[質問2] teadenol Aとteadenol Bは官能基も同じで立体構造が異なるだけである。しかし、FFAR4への反応性は異なるという結論だがその理由としてどのような事が考えられるのか。</p> <p>[回答2] それは自分も興味深い点と感じている。FFAR4のアンタゴニストAH7614による阻害結果でteadenol Aのみがリガンドという結論を述べたが、Erkのリン酸化やGLP-1の分泌に関しては、teadenol Bも誘導する。従って正確にはAH7614の作用部位と少し離れた箇所てadenol Bが作用する可能性は残っている。</p> <p>[質問3] teadenol Aとαリノレン酸 (ALA) の効果を比べるとFFAR4の活性化は同程度であるが、GLP-1の分泌量ではteadenol AはALAの半分程度である。この理由として何が考えられるのか。</p> <p>[回答3] GLP-1の実験では、小腸内分泌細胞株であるSTC-1を使用している。STC-1細胞にはFFAR4以外にもFFAR1等の他の脂肪酸受容体が発現している。teadenol AやPHSは、これら他の脂肪酸受容体を活性化させないと考えられるので、GLP-1の分泌量に差が生じたと考えられる。</p> <p>[質問4] 今回得られた結果がメタボリックシンドロームの予防につながるのではないかと議論しているが、メタボリックシンドロームを取り上げたのには何か理由があるのか。FFAR4は様々な組織で様々な役割が示唆されているので、他にも応用展開が考えられるのではないか。</p> <p>[回答4] 以前、我々の研究グループでPHSをマウスに経口投与した結果、高脂肪食誘導性の耐糖能異常を改善させた事を報告している。その一つのメカニズムとしてPHSがFFAR4の活性化を介して抗メタボリック効果を発揮させるのではないかというディスカッションを行った。ご指摘のとおり、FFAR4の生理機能は他にもあるので、機能性食品としては様々な応用展開が考えられると思う。</p> <p>[質問5] 今回構築したドッキングモデルでは、ALAとPHSの結合部位が細胞質側にあるので、これらリガンドは細胞膜を透過する必要がある様に思われる。実際にこれらのリガンドが膜を透過する速度はどの程度なのか。</p> <p>[回答5] リガンドが細胞膜を透過する正確な時間は判らないが、1時間あればGLP-1の分泌が起こるので、これより短い時間で細胞膜を透過する可能性は高いと考える。</p>	

1004

[質問6] teadenol Aとteadenol Bは1炭素の立体配位が異なるだけの分子であるが、FFAR4への作用は異なる。teadenol Aとteadenol Bで*in silico*シミュレーションを行った場合、この程度の構造の違いで結合の違いが観察できるのか。

[回答6] 残念ながら現行の方法ではこの立体配位の違いによる結合の違いはシミュレーション出来ない。3Dモデルの中でも例えば受容体にも「ゆらぎ」があり、その中で計算を行っている。従ってリガンドの小さな立体構造の違いで異なる結果を得る事は難しいだろう。

[質問7] FFAR4とリガンドの結合でカルボキシル基が重要であろうとの事であるが、これ以外で結合に重要な要素はあるのか。

[回答7] FFAR4は、脂肪酸の鎖長によっても活性化が異なるのでアルキル部分も認識しているはずである。また、不飽和結合も認識していると思われる。

[質問8] FFAR4のR264Aのミュータントを用いた実験で、PHSの活性が100%から60%まで低下しているが、この部位がPHSの認識にも少し影響を持っているのか、それとも構造変化による全体的な活性低下なのか。

[回答8] FFAR4のR264Aの変異は、全体的に活性が落ちる傾向があり、分子全体に大きな構造変化をもたらしているのではないかと想像している。

[質問9] PHSとALAのFFAR4への結合位置が異なるとの事であったが、PHSとALAの同時添加実験は行ったか。

[回答9] 私もその実験に興味を持ち、PHSとALAをFFAR4へ同時添加を試みた。しかし残念ながら相乗的に活性化が起こる事はなかった。

[質問10] 今回の結果では、FFAR4のリガンド結合部位は細胞質側にある。細胞外からのリガンドを認識する為に、何故このような位置にリガンド結合部位があるのか。何か利点があるのか。

[回答10] FFAR4のリガンド結合部位は横から見ると細胞質側に存在するのだが、上から見ると細胞膜に穴を開けながら7つのヘリックスが存在している。受容体も揺らぎながらこの穴を利用し、リガンドを捉えているのではないかと考えている。細胞質側に結合領域が存在する事の利点を議論するのは難しいが、奥に入り込む事で、より正確にリガンドを捉え認識しやすくなるのではないかと考えている。

[質問11] 作製したFFAR4のアミノ酸変異体はアラニン変異だけか。アスパラギンやグルタミン酸とアラニンは構造が大きく違いすぎるのではないか。

[回答11] 他にもチロシンやアスパラギンの変異体も作製した。他の変異体は活性の低下が著しく、結果的に安定した結果が得られたのがアラニン変異体だった。よって、本研究では、これらの変異体を採用した。