

氏名	GONG ZHI
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記号番号	博理工甲第 957 号
学位授与年月日	平成 26 年 9 月 19 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	The Inhibitory regulation of ghrelin secretion by G-protein coupled receptor 120 (GPR120) (GPR120 によるグレリン分泌抑制調節機構の検討)
論文審査委員	委員長 教授 坂井 貴文 委員 教授 小林 哲也 委員 准教授 根本 直人 委員 准教授 足立 明人

## 論文の内容の要旨

Ghrelin, an endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor (GHS-R), is predominantly produced in the stomach. It has been reported that endogenous ghrelin levels are increased by fasting and decreased immediately after feeding, and that fasting-induced ghrelin release is controlled by the sympathetic nervous system. However, the mechanisms of plasma ghrelin decrement after feeding are poorly understood.

In this study, we studied the control of ghrelin secretion using ghrelin-producing cell lines, and found that these cells express high levels of mRNA encoding G-protein coupled receptor 120 (GPR120). Addition of GW9508 (a GPR120 chemical agonist) and  $\alpha$ -linolenic acid (a natural ligand for GPR120) inhibited the secretion of ghrelin by approximately 50% and 70%, respectively. However, the expression levels of preproghrelin and ghrelin *O*-acyltransferase (GOAT) mRNAs were not influenced by GW9508. On the other hand, the expression levels of prohormone convertase 1 (PC1) were significantly decreased by GW9508 incubation. Moreover, we observed that the inhibitory effect of GW9508 on ghrelin secretion was blocked by a small interfering RNA (siRNA) targeting the sequence of GPR120.

Further, pretreatment with GW9508 blocked the effect of the norepinephrine (NE)-induced ghrelin elevation in ghrelin cell lines. In addition, we showed that NE stimulated ghrelin secretion by increasing protein kinase A (PKA) activity, whereas GW9508 inhibited ghrelin secretion via extracellular signal-regulated kinase (ERK) activity in ghrelin cell lines. Finally, we found that GW9508 decreased plasma ghrelin levels in mice.

These results suggest that the decrease of ghrelin secretion after feeding is partially induced by long chain fatty acids that act directly on gastric GPR120-expressing ghrelin cells.

## 論文の審査結果の要旨

GONG Zhi 氏（申請者）の提出した学位論文について、本論文の審査委員会は平成 26 年 8 月 11 日に理学部 9 番教室において公開で発表会を開催し、詳細な質疑を行って内容を審査した。以下に、審査結果の概要を示す。

グレリンは、成長ホルモン分泌促進因子受容体（GHS-R）の内因性リガンドとしてラット及びヒト胃より同定された 28 アミノ酸残基からなるアシル化ペプチドホルモンであり、下垂体からの成長ホルモン分泌刺激、摂食亢進、消化管収縮運動調節及び胃酸分泌刺激など、多くの生理作用を有することが報告されている。一方、グレリンの遺伝子発現や分泌調節機構には不明な点が多く残されている。本研究では、胃グレリン産生細胞に発現する遺伝子を網羅的に解析することで見出された G タンパク共役型受容体のひとつである G-protein coupled receptor 120 (GPR120) に着目し、GPR120 によるグレリン分泌制御機構を明らかにするための一連の研究を行った。本論文によって述べられている主要な研究成果は以下の通りである。

第一章では、マウス胃由来のグレリン産生細胞株である SG-1 細胞とマウス胃粘膜単離細胞を用いて GPR120 を介したグレリン分泌調節についての解析結果を記述している。申請者は、GPR120 mRNA の発現を検討した結果、SG-1 細胞と胃組織で GPR120 mRNA が発現していることを明らかにした。次に、SG-1 細胞を用いて GPR120 のアゴニストである GW9508 と  $\alpha$ -linoleic acid によるグレリン分泌調節効果を検討した。その結果、GPR120 アゴニストの処理はグレリン分泌量を抑制し、SG-1 細胞内のグレリン含有量も低下させることを明らかにした。また、GPR120 のアゴニスト処理はグレリン及びグレリン側鎖修飾酵素（GOAT）mRNA 発現レベルに影響を与えなかったが、prohormone convertase 1 mRNA 発現を低下させることを示した。さらに、siRNA を用いて SG-1 細胞の GPR120 遺伝子発現を抑制した結果、GPR120 アゴニスト誘導性グレリン分泌抑制効果が消失した。マウス胃粘膜初代培養細胞においても GPR120 アゴニスト処理によってグレリン分泌が抑制されること、そして *in vivo* で絶食誘導性グレリン分泌の上昇は GPR120 アゴニストの投与によって有意に抑制されることを明らかにした。以上の結果は、GPR120 のリガンドである長鎖脂肪酸は、直接グレリン産生細胞に作用してグレリン分泌を抑制すること、及び prohormone convertase 1 mRNA 発現を低下させることでグレリン産生を抑制することを示唆している。

第二章では、GPR120 によるグレリン分泌抑制作用の細胞内シグナル伝達経路の詳細を記述している。グレリン分泌促進因子であるノルアドレナリンは  $\beta$ 1 アドレナリン受容体を介して protein kinase A (PKA) を活性化することによって作用するが、GPR120 アゴニストは extracellular signal-regulated kinase (ERK) のリン酸化を介してグレリン分泌を抑制することを明らかにした。最後に、申請者はノルアドレナリン誘導性グレリン分泌刺激作用への GPR120 アゴニストの効果を検討した。その結果、GPR120 アゴニストの処理によってノルアドレナリン誘導性グレリン分泌の増加が有意に抑制されることを示した。また、マウス胃粘膜単離細胞を用いて同様の検討を行い、胃粘膜単離細胞においてもノルアドレナリンによるグレリン分泌の上昇が GPR120 アゴニストによって有意に抑制されること証明した。これらの結果は、 $\beta$ 1 アドレナリン受容体と GPR120 によるグレリン細胞内シグナル伝達経路にはクロストーク機構が存在する可能性を示唆している。

以上、本論文により示された新たな知見は、(1) グレリン産生細胞に GPR120 mRNA が発現し、GPR120 アゴニスト刺激はグレリン分泌を抑制すること、(2) GPR120 アゴニストの投与は絶食誘導性グレリン分泌上昇を抑制すること、さらに (3) GPR120 のシグナルは ERK のリン酸化を介してグレリン分泌抑制効果を発揮することを明らかにした。これらの結果は、これまで不明であったグレリン分泌調節機構における GPR120 の作用とその機序を明らかにしており、グレリンの細胞生物学研究に大きく貢献するものである。なお、上記の内容は査読付き国際学術専門誌に発表している。これらの成果から、本審査委員会は本学位論文を博士（理学）の学位を授与するに値するものと判断し、合格とした。