

Ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 (OGR1) を中心としたプロトン感知性GPCRの解 析

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-07-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 持丸, 雄太 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10291/19578

2018年 1 月 27 日

「博士学位請求論文」審査報告書

審査委員（主査） 農学部 専任教授

氏名 戸村 秀明 印

（副査） 農学部 専任教授

氏名 渡辺 寛人 印

（副査） 農学部 専任教授

氏名 吉田健一 印

1 論文提出者 氏名 持丸 雄太

2 論文題名

（邦文題） Ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1 (OGR1)を
中心としたプロトン感知性 GPCR の解析

（欧文訳） Analysis of proton-sensing GPCRs focused on ovarian cancer
G-protein-coupled receptor 1 (OGR1)

3 論文の構成

本論文は、次の 6 章で構成されている。

第 1 章 本研究の背景

第 2 章 下垂体ホルモン産生細胞株における OGR1 の作用解析

第 3 章 ゼブラフィッシュ OGR1 の解析

第 4 章 様々な動物種における OGR1 相同遺伝子産物の応答解析

第 5 章 ヒト GPR4 とゼブラフィッシュ GPR4 のプロトンとミネラルに対する
応答解析

第 6 章 総括と今後の展望

4 論文の概要

動物体内の恒常性はホルモンや神経伝達物質などの一次情報伝達物質を介して保たれており、その破綻は各種疾病の原因となる。これら一次情報伝達物質はチャンネルや受容体を介して細胞に受容され、さまざまな細胞応答を引き起こすが、古典的なホルモンや神経伝達物質の他にプロトンやミネラルなどの恒常的に体内に存在する物質が、イオンチャンネルや受容体を介して作用を発揮することが近年明らかとなってきた。しかしながらこれらの一次情報伝達物質がどのような受容体を介して、どのような作用を生体に引き起こしているのかに関してはまだ多くが未解明である。本論文は、**ovarian cancer G-protein-coupled receptor 1(OGR1)**を中心としたプロトン感知性 G タンパク質共役型受容体（プロトン感知性 **GPCR**）の解析結果をまとめたものである。本研究は、**OGR1** を介したプロトンやミネラルの個体レベルでの生理作用の解析には、ゼブラフィッシュなどのマウス以外の動物種も併用して解析していくことが必要であること、またその際には実験に用いる動物種におけるリガンド応答性の違いに注意すべきであることを明らかにしている。さらに **OGR1** が抗不安薬の標的のひとつであることも最近明らかとなり **OGR1** が精神活動に関与する可能性があるが、本研究ではこの薬物の作用についても解析を行っている。

第一章では、研究の背景が述べられている。私達の体の約 60%は水分であり常にプロトンの影響を受けていること。生体内でプロトン濃度は **pH 7.4** 付近に厳密に制御され、その破綻は個体死に至ること。一方生体の局所では、破骨細胞から塩酸の分泌による骨吸収作用など、積極的にプロトンを利用した生体調節機構が存在することを挙げ、プロトン感知機構の重要性を記している。またプロトンと同様にその欠乏や過剰摂取が生体機能調節の破綻を招くミネラルの感知機構の重要性についても言及している。これらプロトンやミネラルを感知する機構としては、イオンチャンネルを中心とした研究がこれまでに多くなされてきたこと、しかしながらイオンチャンネルのみではすべての作用を説明することはできないことから、本研究ではプロトンとミネラルを感知することが最近報告された **Ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 (OGR1)**に着目した経緯が述べられている。

第二章では、下垂体ホルモン産生細胞株における **OGR1** の作用解析の結果が述べられている。セクレチンやインスリン分泌など、**pH** 低下とホルモン分泌の間には関係があることが知られている。本学位論文申請者は、この関係が他のホルモン分泌細胞にも存在するかどうか、またその作用に **OGR1** が関与しているかどうかを、性腺刺激ホルモン産生細胞株を用いて解析している。その結果、この細胞株においても **pH** の低下が **OGR1** を介してそのホルモン分泌を調節していることを明らかとし、**pH** 低下によるホルモン分泌の修飾がホルモン産生細胞一般に存在すること。またその修飾作用に **OGR1** が関与している可能性を示唆した。なお本実験で用いたホルモン分泌の測定法は申請者もその開発に携わった独自の測定法を用いている。この方法は独自に論文に

まとめ、発表している。本実験の結果を個体レベルへの研究へと展開する場合、マウス個体内の pH が厳密に 7.4 に制御されているため、これを人為的に変化させることが困難である。このことが OGR1 の個体レベルでの解析を難しくしている。そこで申請者は次にこの問題を克服する第一歩として、より広範な pH 変化に耐えることができ、またモデル動物として近年注目されているゼブラフィッシュに着目し、その OGR1 の解析を行っている。

第三章では、ゼブラフィッシュ OGR1 相同遺伝子産物 (zOGR1) の解析結果について述べている。本研究が行われるまで、zOGR1 の解析はなされていなかったため申請者は zOGR1 の解析を行い、プロトンと抗不安薬に関してはヒトやマウスと同様の活性化を示すこと、一方、ミネラルに関しては異なる活性化応答を示すことを明らかとした。この結果は OGR1 の個体レベルでの作用解析にゼブラフィッシュを用いることが有意義であることを示している。一方ミネラルに対する応答性がヒトやマウスと異なるので、用いるリガンドに関しては注意が必要であることも明らかとした。

第四章では、リガンド応答性の違いがゼブラフィッシュに特異的なものであるのかどうかを明らかにするため、種々の動物由来 (ヒト、ブタ、ラット、マウス、ニワトリ、ネッタイツメガエル、ゼブラフィッシュ) の OGR1 または OGR1 相同遺伝子産物のリガンド応答を比較している。その結果、プロトンはすべての OGR1 に対して活性化作用を示し、共通のリガンドであること、一方ミネラルと抗不安薬に関しては OGR1 の種類によりその応答に差が観察されることを明らかにしている。またミネラルによる応答の差には、少なくとも受容体の細胞外領域が関与していることも明らかにしている。

第五章では、OGR1 とアミノ酸相同性が高く、ヒト、マウスでは OGR1 と同様にプロトンにより活性化される GPCR である GPR4 に関する解析結果が示されている。ヒト、マウス GPR4 と同様にゼブラフィッシュ GPR4 相同遺伝子産物もプロトンにより活性化されることがはじめに示されている。しかしながらどの GPR4 もミネラルによっては活性化されないことも示された。すなわちミネラルを用いることにより、OGR1 と GPR4 の応答や作用を区別できることを明らかとした。

第六章では、本研究の総括と今後の展望について述べられている。本研究の結果、細胞外 pH の低下は OGR1 を介して性腺刺激ホルモン産生細胞株からのホルモン分泌を修飾することが明らかとなり、pH の低下は OGR1 を介してホルモン分泌を調節している可能性を論じている。OGR1 によるこのホルモン分泌の修飾作用にどのくらいの共通性があるのかに関しては、他のホルモン産生細胞の解析結果を待たなければならない。またこの細胞レベルでの結果が、個体レベルでの生理的、病態生理的な作用にどのくらい反映されているのかに関する問題は、今後の課題である。マウスを用いた OGR1 の解析は困難なため、申請者は次に他の動物種に着目し、その OGR1 の解析を行った。その結果、動物種間で共通の応答と異なる応答があることを明らかとした。すなわち、

ある動物種を用いて解析を行う場合、その対象となる生物の相同遺伝子産物の解析を事前に十分に行う必要があることを明らかとした。そのうえで今後、種々の動物種の特徴を生かした解析を行うことで、OGR1 の個体レベルでの生理・病態生理的役割の解明が今後進展する可能性が本研究の結果より示唆された。

5. 論文の特質

本研究により、OGR1 が酸性条件下でホルモン産生細胞からのホルモン分泌を修飾することが明らかとなり、炎症や虚血など pH 低下が引き起こされる状態下でのホルモン作用の研究に一石を投じる結果となっている。しかしながらこの結果を個体レベルで検証するためには、困難な問題が存在する。これまで OGR1 を欠損するマウスを用いた研究結果がいくつか報告されているが、どれも無刺激状態での表現型の観察結果のみであり、人為的に pH を低下させた実験結果を示したものは現在まで知られていない。この原因として生体内の pH が厳密に 7.4 に制御されており、酸性またはアルカリ性に傾くと昏睡状態となり最終的には死に至るため、実験が容易に行えない点があげられる。この点の克服を目指し、本研究では飼育水の pH をある程度変化させても生存可能なゼブラフィッシュに着目し、その OGR1 の応答解析を行っている。その結果、ゼブラフィッシュ OGR1 もヒトやマウスの OGR1 と同様のプロトン応答能を示すことが明らかとなり、ヒトにおける OGR1 の作用を解析するモデルとしてゼブラフィッシュが有用である可能性を初めて示した。近年、マウスと同様にゼブラフィッシュにおいても遺伝子欠損個体の作出が容易にできるようになっていることから、今回の研究結果は今後のゼブラフィッシュ欠損個体の解析の礎となるものである。またゼブラフィッシュ OGR1 の解析途中で明らかとなった「ミネラルによる応答能が動物種によって異なる」という本研究の結果は、その動物の生活様式の違いによって OGR1 がその応答能を変化させてきた可能性を暗示しており、今後のミネラルによる生体機能調節の研究に新たな視点からのデータを供給する可能性を秘めている。最近のゲノム編集技術の進歩により、多くの生物での遺伝子改変が可能となってきていることから、本研究の結果がその基礎データとなることが期待される。

6. 論文の評価

本論文は、プロトンやミネラルによる生体機能調節を解明する手掛かりとなり、また、OGR1 を標的とする抗不安薬などの薬物の作用解析にも多大の貢献となる重要な知見を含んでおり、高く評価できるものである。また、本論文の研究内容の大半は、評価ある国際誌に既に発表されている。

7 論文の判定

本学位請求論文は、農学研究科において必要な研究指導を受けたうえ提出されたものであり、本学学位規程の手続きに従い、審査委員全員による所定の審査及び最終試験に合格したので、博士（農学）の学位を授与するに値するものと判定する。

以 上