

2023 年 8 月 21 日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）

脂肪燃焼を促進する人工受容体の開発 ー細胞の情報伝達に立脚した創薬手法論の開拓へー

【発表のポイント】

- 細胞における機能未解明の情報伝達経路、G12 シグナルを操作できる人工受容体を開発しました。
- この人工受容体を発現させた遺伝子改変マウスの解析から、G12 シグナルは脂肪を燃やす働きを助けることがわかりました。
- 生体内に存在する受容体のうち、脂肪細胞に発現して G12 シグナルを誘導する受容体が肥満治療薬の分子標的となる可能性を提唱しました。
- G12 シグナル型人工受容体を用いた手法論を用いることで、様々な疾患に対する治療薬開発の効率化が期待されます。

【概要】

現在市販されている医薬品のうち、最も多くの種類を占めるのが G タンパク質共役型受容体（GPCR）^{（注1）} と呼ばれる膜表面センサータンパク質（細胞外の分子情報を細胞内に伝える機能を有する）に作用するタイプの薬です。これら GPCR 作用薬のほとんどは、3 種類の G タンパク質シグナル伝達経路（Gs, Gi, Gq）のいずれかの機能を正常化することで薬効を発揮します。これらとは別に、G12 と呼ばれるシグナル伝達経路が存在しますが、G12 シグナルが薬効に寄与するかどうか不明でした。

東北大学大学院薬学研究科の井上飛鳥教授らの研究グループは、G12 シグナルを誘導できるデザイナーGPCR ^{（注2）} を開発しました。このデザイナーGPCR を脂肪細胞に発現する遺伝子組換えマウスを用いることで、通常はエネルギーを貯蓄するタイプの脂肪細胞（白色脂肪）からエネルギーを消費するタイプの脂肪細胞（褐色脂肪）^{（注3）} への転換を G12 シグナルが促進することがわかりました。

GPCR の中には G12 シグナルをオンにするタイプが存在します。脂肪細胞に発現するこれら GPCR の作動薬を開発することで、脂肪を「燃やす」肥満治療薬となることが期待されます。また、この遺伝子改変マウスを利用すると、デザイナーGPCR を別の調べたい組織に発現させることが可能であり、様々な疾患に対する G12 シグナルの効果を検証することが可能となります。

本研究成果は、2023 年 8 月 21 日に、科学雑誌 Signal Transduction and Targeted Therapy に掲載されました。

【詳細な説明】

研究の背景

現在市販されている医薬品の有効成分は約 1400 種類あります。そのうち、約 3 分の 1 が G タンパク質共役型受容体 (GPCR) と呼ばれる膜タンパク質に作用するタイプの薬です。GPCR は細胞の表面に存在し、細胞外のホルモンなどを感知して細胞内に適切な情報 (シグナル) を伝達するのが本来の機能です。多くの疾患は、シグナル伝達の異常が起因となります。GPCR 作用薬はこのような不適なシグナルを正常化することで (シグナル誘導が作動薬、遮断は拮抗薬と呼ばれます)、細胞機能を戻して薬効を発揮します。

GPCR が伝達するシグナルは大きく 4 種類 (Gs, Gi, Gq, G12) に分類され、GPCR ごとに異なるシグナルを発します。これらのシグナルを担う因子は三量体 G タンパク質 (以下、G タンパク質) と呼ばれ、GPCR はそれぞれ好みの G タンパク質が異なると言えます。このシグナルの視点から既存の GPCR 作用薬を分類すると、3 種類 (Gs, Gi, Gq) の G タンパク質シグナル経路に関連するものがほとんどであり、G12 シグナル経路に作用する薬は極めて少ないことが知られています。この一因として、G12 シグナルを解析する手法が限られていて、G12 シグナル型 GPCR の研究が遅れていることが想定されています。

脂肪細胞 (白色脂肪細胞) はエネルギーを脂肪滴の形で貯蓄し (図 1)、体のエネルギー状態が低下した時に脂肪滴からエネルギーを産生します。この仕組みはヒトの祖先が飢餓を生き抜く上では必須でしたが、飽食の現代においては肥満を容易に引き起こし、これに起因する様々な疾患リスクにつながります。既存の抗肥満薬はいずれもエネルギー摂取を抑制する方向であり、すでに溜まっているエネルギーを消費する方向の薬はありません。脂肪細胞には、褐色脂肪細胞と呼ばれる熱産生能が高い細胞種が存在します (図 1)。寒冷時などに白色脂肪細胞が褐色脂肪細胞へと分化転換する現象 (脂肪細胞の褐色化) が知られています。 $\beta 3$ アドレナリン受容体 ($\beta 3AR$ 、Gs シグナル型)^(注 4) に対する作動薬を投与すると、薬理的に褐色化を誘導することができることから、 $\beta 3AR$ 作動薬^(注 5) はエネルギー消費を高める薬、すなわち“痩せ薬”として期待されたことがありました。しかし、ヒトの臨床試験から薬効が不十分であることが報告され、 $\beta 3AR$ 作動薬は抗肥満薬としての開発は中断されています。

今回の取り組み

東北大学大学院薬学研究科の小野雄基大学院生 (研究当時) と井上飛鳥教授、医学系研究科の酒井寿郎教授、ドイツ・ハイデルベルク大学の Robert B. Russell 教授らの国際共同研究グループは、G12 シグナル作動薬を模倣できるデザイナーGPCR を開発し、これを脂肪細胞に発現させた遺伝子改変マウスを調べることで、G12 シグナルが脂肪細胞をエネルギー消費型の褐色脂肪細胞に転換を促進する現象を見出しました。

まず、研究グループは G12 シグナルを誘導するデザイナーGPCR の改良に取り組みました。デザイナーGPCR はデザイナー薬との組み合わせで使われる化学遺伝学（ケモジェネティクス）の研究ツールです（図 2、図 3）。研究グループは以前の研究（参考文献 1）において、Gq シグナル型のデザイナーGPCR を改変することで G12 シグナル型を開発していました。この初期バージョンのデザイナーGPCR は他の G タンパク質にも弱いながらシグナル活性を示したことから、G12 シグナルの選択性の向上を目指しました。Russell 教授らの研究グループにおいて生物情報学解析を活用することで、選択性向上が期待される 1 アミノ酸変異を複数設計しました。培養細胞を用いたシグナル計測により、G12 シグナル選択性が改善したデザイナーGPCR（以下 G12D と表記）を取得しました（図 2）。

次に、井上教授らの研究グループはこの新しいバージョンのデザイナーGPCR を特定の組織に発現させる遺伝子改変マウス（Stop-G12D マウス）を作出しました（図 3）。特定の組織に発現させる手法として、Cre リコンビナーゼ^{（注 6）}を用いた手法が汎用されています。Stop-G12D マウスはデザイナーGPCR をどの組織でも発現しませんが、特定の組織で Cre リコンビナーゼを発現するマウスと交配させることで、その次の世代のマウスでは、Cre リコンビナーゼが発現する組織でデザイナーGPCR が発現するようになります（図 3）。この状態では、G12 シグナルはまだ誘導されていませんが、デザイナー薬をマウスに投与することで G12 シグナルを特定の組織で誘導することができます。今回、研究グループは Cre リコンビナーゼを脂肪細胞に発現するマウスに Stop-G12D マウスを交配させることで、脂肪細胞にデザイナーGPCR を発現させたマウス（脂肪 G12D マウス）を作出しました。

この脂肪 G12D マウスと G12D を発現しない対照群のマウスに対し、デザイナー薬を投与して脂肪細胞の形態や機能を調べたところ、両群のマウスで顕著な変化は認められませんでした（図 4）。そこで、脂肪細胞の褐色化を促す作用を有する $\beta 3AR$ 作動薬と共にデザイナー薬をこのマウスに投与しました。その結果、 $\beta 3AR$ 作動薬の作用により両群のマウスで脂肪細胞の褐色化が生じていましたが、その効果は脂肪 G12D マウスで顕著に高いことが、組織形態と遺伝子発現解析からわかりました。

続いて、井上教授・酒井教授らのグループは細胞レベルの褐色化がマウスの個体レベルでの代謝変化に影響を与えるか調べました。 $\beta 3AR$ 作動薬とデザイナー薬を前処置（褐色脂肪細胞を誘導）したマウスを代謝ケージに入れ、自由活动下での酸素消費量を計測しました。その結果、両薬の追加投与により、両群のマウスで酸素消費量が増加しましたが（ $\beta 3AR$ 作動薬による効果）、脂肪 G12D マウスではこの酸素消費増加が持続していました（図 4）。次に、両薬を前処置したマウスを寒冷ケージに入れ、体温変化を測定しました。その結果、両群のマウスで徐々に体温が低下しましたが、脂肪 G12D マウスでは低下幅が

小さいことがわかりました。これらの結果から、脂肪 G12D マウスは褐色脂肪細胞が増加し、全身のエネルギー消費・熱産生が亢進することがわかりました。

最後に、培養細胞の実験により、脂肪細胞の褐色化の詳細な機構を調べました。薬物処置をしていないマウスの脂肪組織を摘出し、酵素処理により細胞を分散させ、脂肪細胞の前駆細胞を単離しました。この細胞を適切な培地の中で培養することで、褐色脂肪細胞へと分化させました。この細胞にデザイナー薬を処置すると、褐色化が促進することが確認できました。この条件に対して、様々なシグナル伝達阻害剤を試したところ、デザイナー受容体の下流で働くシグナル経路を特定しました（図 4）。

以上の結果から、G12 シグナルは Gs シグナルによる脂肪細胞の褐色化を相乗的に促進することがわかりました（図 4）。この細胞種の転換により、個体レベルでエネルギー消費の亢進につながることが実証されました。

今後の展開

本研究により、既存の痩せ薬であるエネルギー摂取を抑制するタイプとは異なる、エネルギー消費を亢進するタイプの肥満治療薬の創生が期待されます。過去の研究では、 $\beta 3AR$ 作動薬をヒトに投与すると、褐色脂肪細胞の増加が生じるものの、痩せる効果は認められないという結果が報告されています。脂肪細胞には G12 シグナル型 GPCR が多数発現しており、今後これらの GPCR に対する作動薬の開発が望まれます。この作動薬をミラベグロンなどの $\beta 3AR$ 作動薬と併用することで、エネルギー消費が大幅に亢進して痩せる効果が期待されます。

また、本研究で作出した G12 シグナルのデザイナーGPCR とこれを発現させる Stop-G12D マウスは汎用性のある研究ツールです。別の種類の Cre リコンビナーゼを使うことで、脂肪以外の組織にデザイナーGPCR を発現させて、G12 シグナルの薬効を調べることができます。病態モデルマウスに対する治療効果が認められる場合、内在性に発現する G12 シグナル型 GPCR の作動薬の開発につながります。この方法論は一見回り道ですが、標的組織と特定のシグナルを介した薬効を調べるクリーンな手法であり、標的を絞って成功確率の高い治療薬を開発することに貢献します。

【説明図】

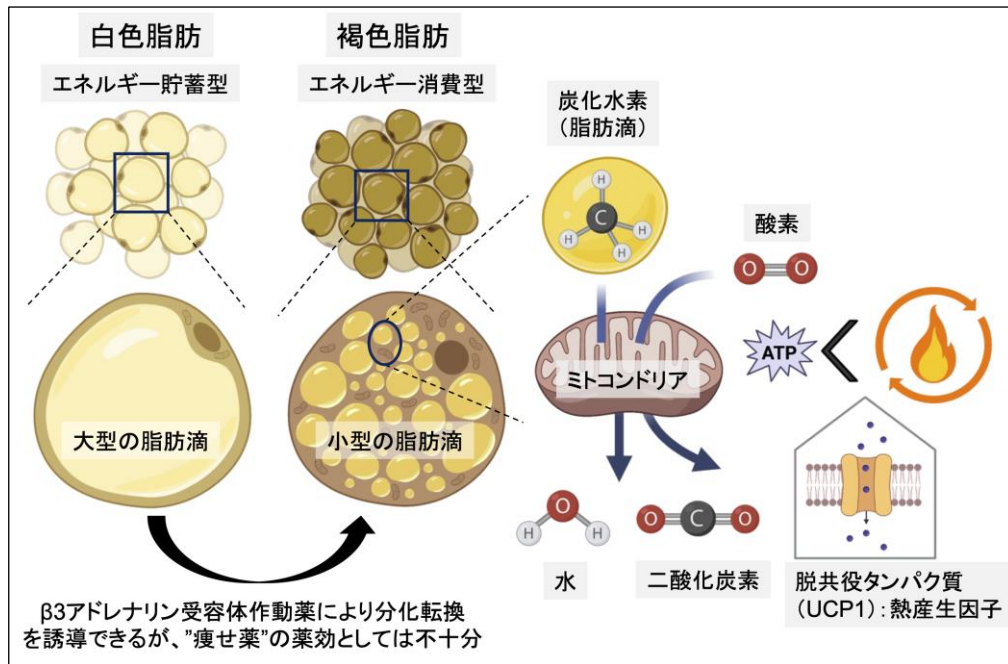


図 1. 白色脂肪と褐色脂肪

白色脂肪細胞はエネルギーの貯蓄を、褐色脂肪細胞はエネルギーの消費の役割を担う。褐色脂肪細胞に豊富に含まれるミトコンドリアは、脂肪滴の脂質成分（組成は炭化水素）を“燃やして”、水と二酸化炭素に分解する。通常、ミトコンドリアは、この時に細胞エネルギー通貨の ATP を産生するが、褐色脂肪細胞は脱共役タンパク質（UCP1）を発現しており、熱エネルギーを産生する。

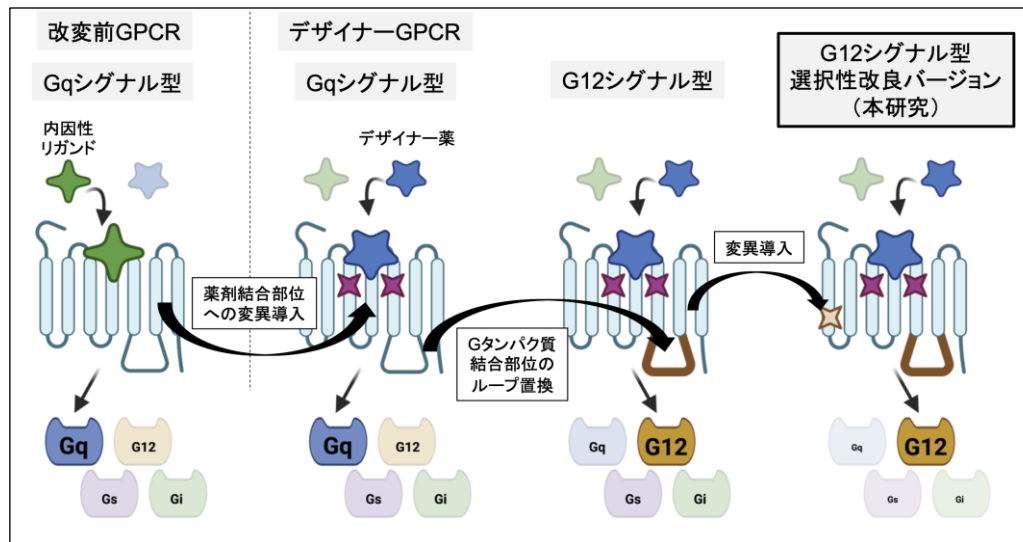


図 2. デザイナーGPCR の開発

本研究では、過去の研究で作出していた G12 シグナル型に 1 カ所アミノ酸の変異を導入することで、G12 への選択性が向上した改良バージョンの G12 シグナル型デザイナーGPCR を開発した。

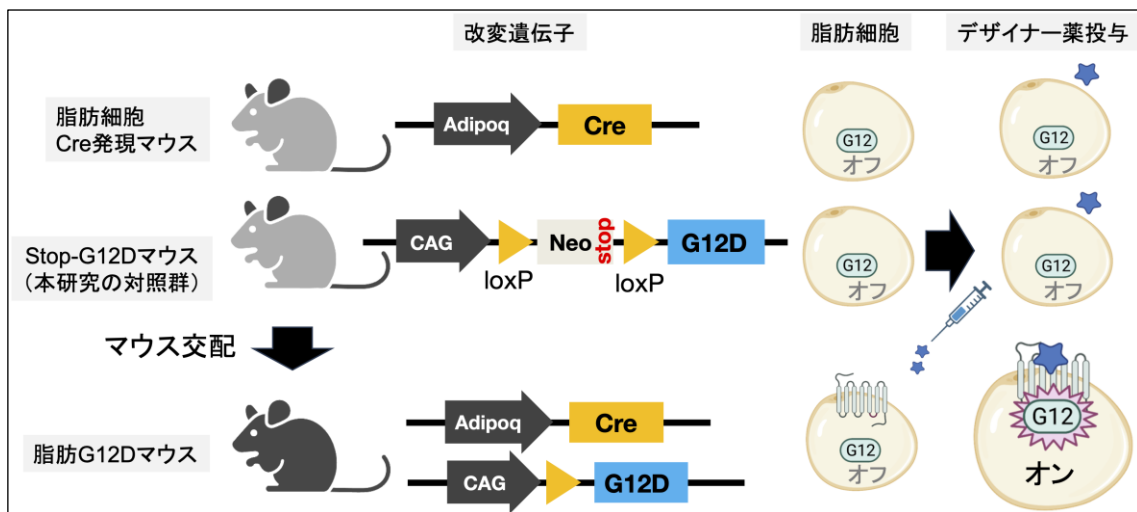


図 3. 化学遺伝学による脂肪細胞での G12 シグナル入力

脂肪細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスと Stop-G12D マウスを交配して脂肪 G12D マウスを作出する。脂肪 G12D マウスの脂肪細胞では、Cre リコンビナーゼが loxP で組換えを起こし、G12D が発現ようになる。このマウスにデザイナー薬を投与することで、脂肪細胞に G12 シグナルを誘導することができる。

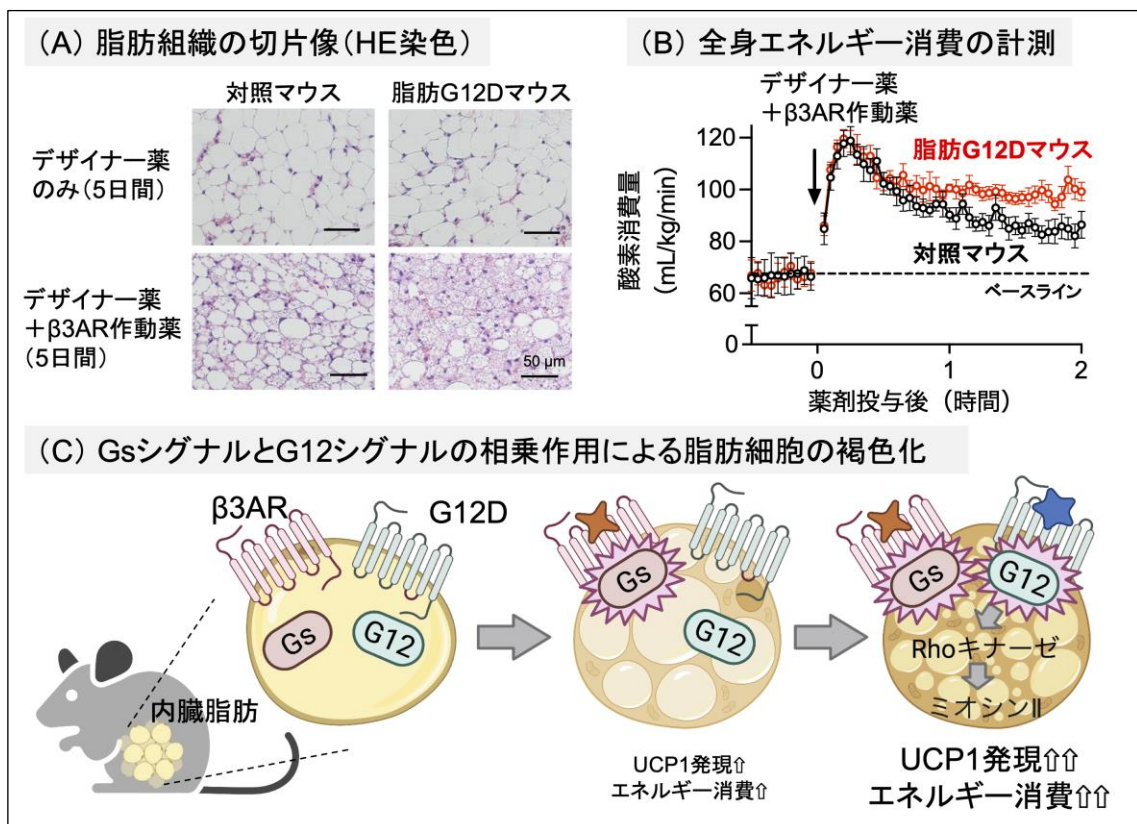


図 4. 脂肪 G12D マウスを用いた脂肪細胞褐色化の解析

(A) 脂肪 G12D マウスと対照マウス (Stop-G12D マウス) に、デザイナー薬のみもしくはデザイナー薬と β 3AR 作動薬を 5 日間投与し、脂肪組織の組織形態を観察した。右下の条件において、顕著な褐色化が生じていることがわかった。なお、切片上で白く抜けている部分は脂肪滴を表す。(B) このマウスを代謝ケージに入れ、酸素消費量を計測したところ、デザイナー薬と β 3AR 作動薬の投与により、脂肪 G12D マウスで持続的な酸素消費量の増加が見られ、エネルギー消費が亢進することがわかった。(C) 本研究の結果をまとめたモデル図。G12 シグナルの下流の Rho キナーゼ、ミオシン II の関与は培養細胞実験から得られた。Gs シグナルと G12 シグナルが脂肪褐色化に相乗的な効果を有することがわかった。

【謝辞】

本研究は、「文部科学省科学研究費補助金 (課題番号: JP21H04791)」、「科学技術振興機構 (JST) 創発的研究支援事業 (課題番号: JPMJFR215T)」を始めとする様々な研究費支援を受けて実施されました。

本記事の図の作成には BioRender を使用しました。

【用語説明】

注1. G タンパク質共役型受容体 (GPCR)

細胞膜表面に発現し、主に細胞外ホルモン様分子の作用を仲介する。ヒトにおいて約 800 種類存在し、そのうち約 110 種類が薬の標的となることが知られる。

注2. デザイナーGPCR

化学遺伝学 (ケモジェネティクス) で使われる人工的に改変した GPCR。内因性代謝物には応答せず、元来生物活性を有さない特定の作動薬 (デザイナー薬) により活性化できる。神経科学分野において、神経細胞の活性化 (Gq 型デザイナーGPCR) や不活化 (Gi 型デザイナーGPCR) の操作手法として汎用される。別名、DREADD (ドレッド)。

注3. 褐色脂肪

脂肪細胞のうち熱産生能が高い細胞種。脂肪滴を代謝分解するために細胞内に大量のミトコンドリア (含有する色素により褐色を示す) を含んでおり、細胞が褐色であることからその名称が付けられている。ヒトでは肩甲骨付近に存在する。

注4. β 3 (ベータ スリー) アドレナリン受容体 (β 3AR)

Gs シグナル型の GPCR。脂肪細胞に最も高発現する GPCR であり、神経末端から放出される神経伝達因子のアドレナリンにより活性化され、褐色化や脂肪滴の分解の促進の作用を仲介する。

注5. β 3AR 作動薬

β 3AR のシグナル活性を増加させる作用薬。 β 3AR 作動薬としてミラベグロン（商品名ベタニス）が過活動膀胱治療薬として唯一承認されている。

注6. Cre（クレ）リコンビナーゼ

loxP 配列と呼ばれる 34 塩基からなる特定の DNA 配列に作用し、その配列に挟まれた配列を切り出す DNA 組換え酵素。Cre リコンビナーゼを特定の組織に発現させるマウスが多数作出されている。本研究では、脂肪細胞特異的に発現するマウス（Adipoq-Cre）を用いた。

【参考文献】

1. Inoue et al. Cell 2019, 177, 1933
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2019/05/press20190531-01-genri.html>

【論文情報】

タイトル：Chemogenetic activation of G12 signaling enhances adipose tissue browning（日本語訳：化学遺伝学による G12 シグナル活性化は脂肪細胞の褐色化を促進する）

著者：Yuki Ono¹, Ryo Ito^{2, #}, Kaito Arai^{1, #}, Gurdeep Singh³, Tsuyoshi Saitoh⁴, Robert B. Russell³, Francesco Raimondi⁵, Junken Aoki⁶, Juro Sakai^{2, 7}, Asuka Inoue^{1, *}

1 東北大学 大学院薬学研究科

2 東北大学 大学院医学研究科

3 ドイツ・ハイデルベルク大学

4 筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構

5 イタリア・ピサ高等師範学校

6 東京大学 大学院薬学系研究科

7 東京大学 先端科学技術研究センター

#共同第二著者

*責任著者：東北大学 大学院薬学研究科 教授 井上飛鳥

掲載誌：Signal Transduction and Targeted Therapy

DOI：<https://doi.org/10.1038/s41392-023-01524-2>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学 大学院薬学研究科

教授 井上 飛鳥

TEL:022-795-6861

E-mail: iaska [at] tohoku.ac.jp (＊)

(JST 事業に関すること)

科学技術振興機構 創発的研究推進部

内山 浩幹

TEL:03-5214-7276

E-mail: souhatsu-inquiry [at] jst.go.jp (＊)

(報道に関すること)

東北大学 大学院薬学研究科 総務係

TEL: 022-795-6801

E-mail: ph-som [at] grp.tohoku.ac.jp (＊)

科学技術振興機構 広報課

TEL:03-5214-8404

E-mail: jstkoho [at] jst.go.jp (＊)

(＊) 上記メールアドレスは [at] を @ に変換してください。