

2024年11月25日

報道機関 各位

国立大学法人東北大学

脂肪肝・肥満の治療作用を有するシグナル経路の発見 -未開拓の受容体シグナルを標的とした治療薬の開発に貢献-

【発表のポイント】

- Gタンパク質共役型受容体（GPCR）^{（注1）}の細胞内情報伝達（シグナル）経路の一つであるG₁₂シグナル^{（注2）}が、脂肪肝および肥満の発症に対して抑制作用を示すことを明らかにしました。
- これらの代謝改善作用を担う機構として、肝臓からの中性脂肪の分泌促進とヘパトカインFGF21^{（注3）}を見出しました。
- 肝臓に発現しG₁₂シグナルを誘導する種々のGPCRは、脂肪肝・肥満治療の創薬標的となることが期待されます。

【概要】

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は飲酒習慣がない個人において肝臓への脂質蓄積が見られる疾患であり、肥満などの代謝異常がその発症原因となります。NAFLDには初期病態の脂肪肝と比較的進行した脂肪肝炎が含まれ、脂肪肝炎はさらに肝硬変や肝細胞がんに進行するため、早期の治療が望まれます。しかし、NAFLDの有用な治療薬は未だ開発されていません。

東北大学大学院薬学研究科の荒井魁斗大学院生、井上飛鳥教授らの研究グループは、GPCRの特定の下流シグナルを選択的に誘導するデザイナー受容体（DREADD）^{（注4）}と肥満モデルマウスを用いた研究により、肝臓におけるG₁₂シグナルの誘導が肝臓への中性脂肪^{（注5）}の蓄積を抑制し、肥満による体重増加を抑制することを明らかにしました。肝臓に発現するGPCRの中にはG₁₂シグナルをオンにするものがあるため、これらのGPCRに対する作動薬を開発することで脂肪肝や肥満に対する治療につながることを期待されます。

本研究成果は、2024年11月12日に、科学誌 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease に掲載されました。

※カテゴリは広報室に一任してください。

研究

【詳細な説明】

研究の背景

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）は、飲酒習慣がない個人において、肥満などの要因により肝臓への脂質蓄積が見られる疾患です（図 1）。肝臓における脂質量は、脂肪酸の取り込みおよび合成による脂質量の増加と、脂肪酸の分解および肝臓からの中性脂肪の分泌による脂質量の減少のバランスによって制御されます。肥満の発症などに伴いこれらのバランスが攪乱され、脂質量の増加が優位になると、肝臓への中性脂肪の蓄積が促進されます。この状態は脂肪肝と呼ばれ、NAFLD の初期病態とされます。脂肪肝から病状が進行すると、脂肪蓄積と共に炎症などが見られる脂肪肝炎へと遷移します。脂肪肝炎はさらに肝硬変や肝細胞がんに進行するため、NAFLD は早期の治療が望まれます。しかし、NAFLD の有用な治療薬は未だ開発されていません。

肝臓の脂質代謝を制御する上流因子に、G タンパク質共役型受容体（GPCR）と呼ばれる膜タンパク質があります。GPCR は細胞の表面に存在し、ホルモンを始めとする細胞外の情報伝達物質を感知して、細胞内に情報（シグナル）を伝達します。GPCR は 4 種類（ G_s 、 G_i 、 G_q 、 G_{12} ）に大別される三量体 G タンパク質（以下、G タンパク質）を介して、それぞれ異なるシグナルを細胞内へと伝達します。個々の GPCR は G タンパク質に対して選択性（単独もしくは組み合わせ）を示すことから、肝臓に存在する GPCR もその G タンパク質選択性に依存して脂肪肝に対して異なる作用を示します。これまで、脂肪肝への G_s 、 G_i 、 G_q を介した作用が研究されてきた一方で、 G_{12} を刺激した際の作用は明らかではありませんでした（図 2）。この一因として、個体において G_{12} シグナルのみを選択的にオンにする手法が限られていたことが挙げられます。

特定の G タンパク質シグナルをオンにする手法として、デザイナー受容体（以下、DREADD）と呼ばれる人工 GPCR が有用です。DREADD は特定のデザイナー作動薬のみに応答し、特定の G タンパク質シグナルを誘導します。この DREADD を実験動物に遺伝子導入し、デザイナー作動薬を投与することによって、特定の G タンパク質がもたらす薬効を調べることができます。本研究グループの先行研究（参考文献 1）では、 G_{12} シグナルを選択的に誘導する DREADD（ $G_{12}D$ ）を開発し、Cre リコンビナーゼと呼ばれる酵素の存在下で $G_{12}D$ を発現するマウス（LSL- $G_{12}D$ マウス）^{（注 6）} を作製しました。このマウスを用いて、本研究では、肝臓における G_{12} シグナル誘導時の効果を明らかにすることを目的としました。

今回の取り組み

東北大学大学院薬学研究科の荒井魁斗大学院生と井上飛鳥教授、医学研究科の片桐秀樹教授、加齢医学研究所の魏范研教授らの研究グループは、 $G_{12}D$ を肝臓に発現させた遺伝子改変マウスを用いることで、肝臓における G_{12} シグナル

の誘導が脂肪肝および肥満を抑制することを明らかにしました（図 2）。

まず、マウス個体において肝臓特異的な G_{12} シグナルの誘導を可能にするために、研究グループは $G_{12}D$ を肝臓組織特異的に発現する遺伝子改変マウスを作りました。上述した LSL- $G_{12}D$ マウスを、肝臓に選択的に 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、次の世代で肝臓に $G_{12}D$ を発現するマウス（肝 $G_{12}D$ マウス）を作りました。このマウスにデザイナー作動薬を投与することで、肝臓のみに G_{12} シグナルを誘導することができます（図 3）。

次に、研究グループは脂肪肝に対する G_{12} シグナルの作用を調べました。肝 $G_{12}D$ マウスと $G_{12}D$ を発現しない対照群のマウスを高脂肪食で飼育することで脂肪肝を発症させ、これらのマウスにデザイナー作動薬を投与しました。その結果、肝 $G_{12}D$ マウスにおける肝臓への中性脂肪の蓄積は、対照群マウスと比較して顕著に抑制されました。肝 $G_{12}D$ マウスで脂肪蓄積が抑制される機序を調べるために、 $G_{12}D$ を活性化した際の肝臓の主要な脂質代謝経路への作用を調べました。その結果、肝 $G_{12}D$ マウスでは肝臓からのトリグリセリドの分泌が増加していることがわかりました。これらの結果から、肝臓において G_{12} シグナルを誘導することは、肝臓からの中性脂肪の分泌を増加させ、NAFLD の初期病態である脂肪肝を抑制する効果があることが示唆されました（図 4）。

続いて、NAFLD 発症の一因でもある、肥満に対する G_{12} シグナルの機能を調べました。その結果、デザイナー作動薬の投与開始から肝 $G_{12}D$ マウスでは体重増加が抑制され、肝臓における G_{12} シグナルの誘導は、肥満を抑制することがわかりました。また、肥満抑制の要因を調べるために、デザイナー作動薬投与後に、全身のエネルギー消費の指標である酸素消費量を測定しました。肝 $G_{12}D$ マウスは対照群マウスよりも高い酸素消費量を示し、全身レベルのエネルギー消費が増加していることが明らかになりました。

最後に、抗肥満作用の分子機序を調べました。肝臓を始点として全身に作用を及ぼす上で、肝臓で産生されるホルモン（ヘパトカイン）が重要な役割を果たすことから、研究グループは抗肥満作用を有するヘパトカインである FGF21^{（注2）} に着目しました。FGF21 の肝臓における遺伝子発現量を調べると、肝 $G_{12}D$ マウスにおいてその発現量が上昇していました。そこで、FGF21 の作用を阻害する抗体を投与することにより、このホルモンの関与を調べました。その結果、抗体の投与により肝 $G_{12}D$ マウスで見られた体重増加抑制作用が減弱することがわかりました。これらの結果から、肝臓における G_{12} シグナルの誘導はエネルギー消費を増加させることで肥満を抑制し、FGF21 が肝 $G_{12}D$ マウスにおける体重増加の抑制に関与することが示されました（図 4）。

今後の展開

本研究により、これまで有用な治療薬に乏しかった NAFLD に対して、 G_{12} シグナルを標的とした新たな治療薬の開発が進むことが期待されます。肝臓には、

数多くの G_{12} 共役型 GPCR が存在することが知られています。本研究成果から、 G_{12} 共役型 GPCR に対する作動薬は肝臓から中性脂肪の分泌を促進し脂肪肝を抑制することが想定されます。一方、 G_{12} シグナルによる肝臓からの中性脂肪の分泌増加は心疾患のリスクとなることには注意が必要です。血中の中性脂肪を減らす他の治療薬と併用することで、 G_{12} シグナルによる脂肪肝抑制の恩恵のみを受けられると考えられます。また、肝臓に存在する G_{12} 共役型 GPCR は肥満治療薬の標的となることが期待され、NAFLD のみならずその他の肥満関連疾患の治療に有用である可能性があります。

本研究と並行して、我々と米国国立衛生研究所 (NIH) の Jurgen Wess 教授らの共同研究グループは、同人工 GPCR を用いて、肝臓の糖代謝における G_{12} シグナルの作用を解析しました (参考文献 2)。こちらの研究では、 G_{12} シグナルがその下流で ROCK1-JNK 経路 (注 7) をオンにすることで、肝臓におけるグルコースの産生を増加させることを明らかにしました。糖代謝、脂質代謝はともに肝臓の主要な代謝機能の一つであることから、本研究および共同研究グループの報告は肝臓機能における G_{12} シグナルの重要性を示すものであると考えられます。肝臓には G_{12} シグナルを伝達する GPCR が多数存在しており、今後これらの GPCR に対する薬剤を開発することで、NAFLD や糖尿病といった代謝性疾患の新たな治療戦略となることが望まれます。

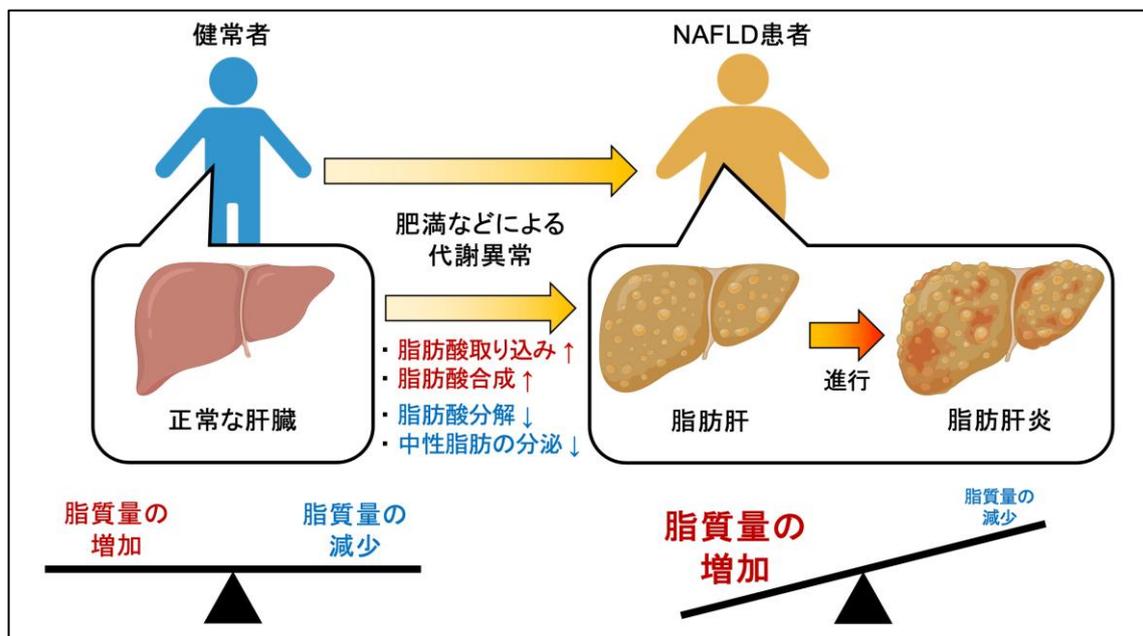


図 1. NAFLD の発症における脂質量調節の概要

肝臓における脂質量は、脂肪酸の取り込みおよび合成による脂質量の増加と、脂肪酸の分解および肝臓からの中性脂肪の分泌による脂質量の減少のバランス

によって決定される。肥満の発症などに伴いこれらのバランスが攪乱され、脂質量の増加が優位になると、肝臓への中性脂肪の蓄積が促進される（脂肪肝）。脂肪肝から病状が進行すると、脂肪蓄積と共に炎症などが見られる脂肪肝炎へと遷移する。NAFLD は脂肪肝および脂肪肝炎を含む疾患であり、脂肪肝炎は肝臓がんといった致死性の疾患のリスク因子となる。

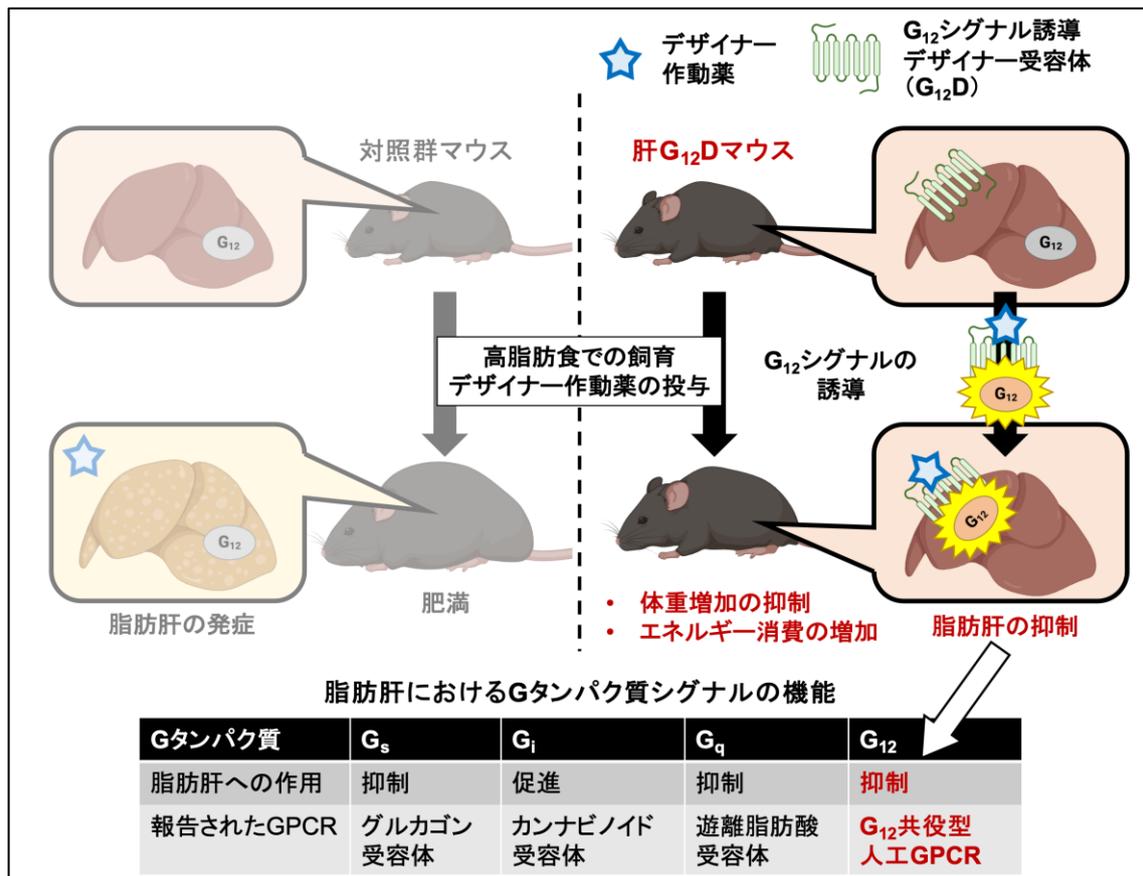


図 2. 肥満マウスにおける G_{12} シグナルの機能解析の概要

肝 $G_{12}D$ マウスへデザイナー作動薬を投与し、肝臓選択的に G_{12} シグナルを誘導すると、全身レベルのエネルギー消費量が増加し、脂肪肝および肥満の発症を抑制した。これまでの研究で、脂肪肝における他の G タンパク質シグナル (G_s 、 G_i 、 G_q) を誘導した際の作用は報告がある一方で、 G_{12} シグナル誘導時に脂肪肝に与える作用はこれまで未知であった。本研究において、 G_{12} シグナルをオンにすることで脂肪肝を抑制することが明らかとなった。

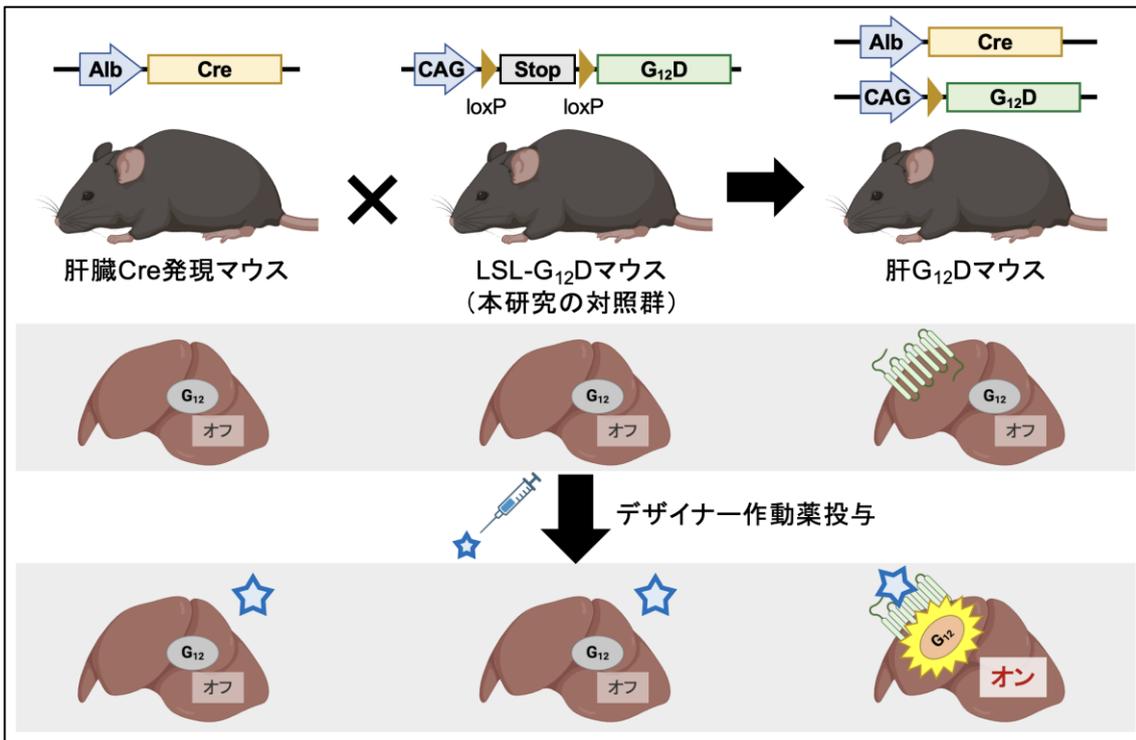


図 3. 肝 G₁₂D マウスの作出と化学遺伝学による G₁₂ シグナルの誘導

肝臓特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスと LSL-G₁₂D マウスを交配して肝 G₁₂D マウスを作出する。肝 G₁₂D マウスの肝臓では、Cre リコンビナーゼが loxP 配列で組換えを起こし Stop 配列が除かれることで、G₁₂D が発現するようになる。このマウスにデザイナー作動薬を投与することで、肝臓に G₁₂ シグナルを誘導することができる。

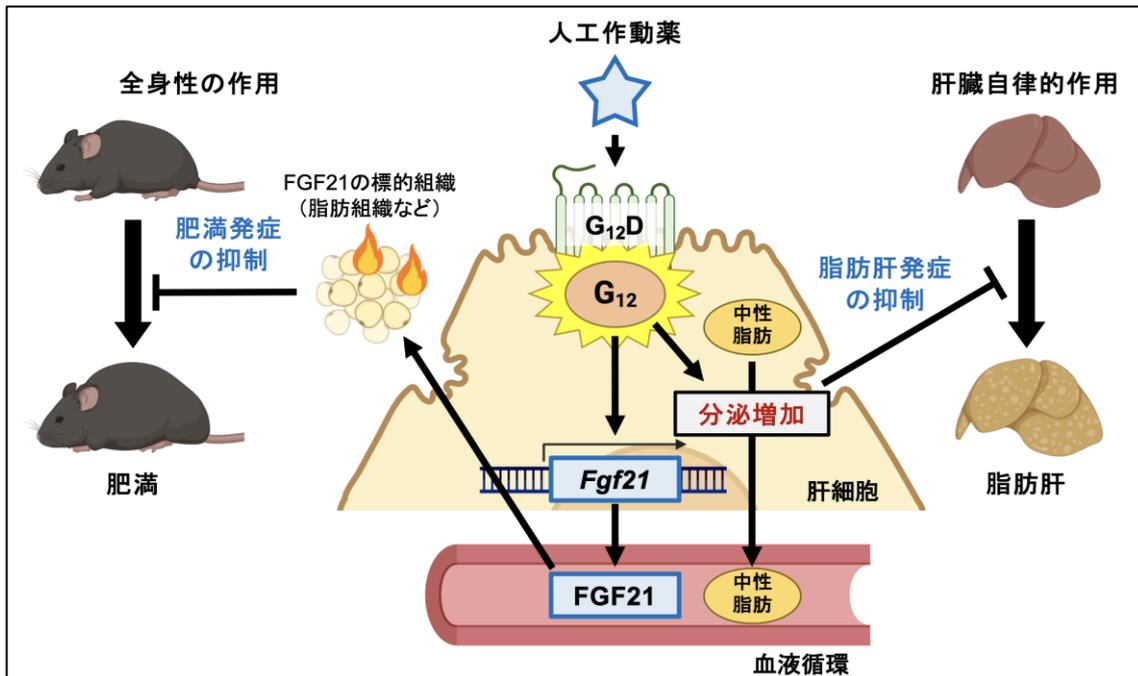


図 4. 本研究から想定される G_{12} シグナルの下流経路

$G_{12}D$ を介して G_{12} シグナルを誘導することで、肝臓からの中性脂肪の分泌が増加した。そのため、 G_{12} シグナルの誘導は肝臓から中性脂肪を追い出すことで脂肪肝を抑制することが示唆された。また、 G_{12} シグナルの誘導により抗肥満作用を持つホルモンである FGF21 の遺伝子発現量が増加し、FGF21 に対する抗体を用いた実験では、肝 $G_{12}D$ マウスに見られる体重増加抑制作用が減弱した。従って、肝臓の G_{12} シグナルをオンにすることで肝臓における FGF21 の産生が増加し、血液循環によって FGF21 が全身に作用することで肥満を抑制することが示唆された。

【謝辞】

本研究は、「文部科学省科学研究費補助金（課題番号: JP21H04791）」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。

本論文は『東北大学 2024 年度オープンアクセス推進のための APC 支援事業』により Open Access となっています。

本記事の図の作成には BioRender を使用しました。

【用語説明】

注1. GPCR (G-protein-coupled receptor、G タンパク質共役型受容体)

細胞膜に存在する受容体であり、ヒトにおいて約 800 種存在する。GPCR は特定のホルモンや代謝物などと結合することで活性化型へと構造変化し、主に三量体 G タンパク質と結合することで、さまざまな細胞応答を引き起

こす。

注2. FGF21 (Fibroblast growth factor 21、線維芽細胞増殖因子 21)

肝臓において産生される、強い抗肥満作用を持つホルモン。肝臓で産生された FGF21 は血中へと分泌され、脳や脂肪組織に作用することで抗肥満効果を発揮する。

注3. G_{12} シグナル

三量体 G タンパク質のうち、 G_{12} ファミリーのメンバー (G_{12} と G_{13}) が介在する細胞内シグナル。主な下流経路として、細胞骨格や遺伝子転写を調節する Rho-ROCK 経路が知られる。

注4. DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs の略語、ドレッド)

本研究で使用した DREADD ($G_{12}D$) はムスカリン性アセチルコリン受容体の改変体であり、内因性代謝物であるアセチルコリンには応答せず、生物活性を持たない特定のデザイナー作動薬に応答して G_{12} シグナルを伝達する (図 2 参照)。

注5. 中性脂肪

グリセロールに脂肪酸が結合した、トリグリセリドと呼ばれる脂質分子。肝臓に取り込まれた脂肪酸は中性脂肪に変換され、脂肪滴として蓄えられる。肝臓から血中へと分泌された中性脂肪は筋肉や脂肪組織などに脂肪酸を供給し、各々の組織でエネルギー源として利用される。

注6. LSL- $G_{12}D$ マウス

Cre リコンビナーゼの発現に依存して $G_{12}D$ を発現する遺伝子改変マウス。組織特異的に Cre リコンビナーゼを発現するマウスと掛け合わせることで、loxP-Stop-loxP (LSL) の Stop カセットが除かれることで、特定の組織のみに $G_{12}D$ を発現させることができる (図 2 参照)。

注7. ROCK1-JNK 経路

G_{12} シグナルの下流で誘導される経路。 G_{12} シグナルがオンになることで Rho-ROCK (ROCK1) 経路 (注 3 参照) が誘導される。リン酸化酵素である ROCK1 は JNK をリン酸化することで JNK シグナルをオンにし、JNK シグナルの下流では遺伝子発現や細胞機能が調節される。

【参考文献】

1. Ono et al., Signal Transduct Target Ther. 2023, 8, 307
<https://www.tohoku.ac.jp/japanese/2023/08/press20230821-01-g12.html>
2. Pittala et al., Nat Commun. 2024, 15, 9996
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-54299-7>

【論文情報】

タイトル : Chemogenetic activation of hepatic G12 signaling ameliorates hepatic steatosis and obesity (日本語訳 : 化学遺伝学による肝 G12 シグナルの活性化は脂肪肝と肥満を改善する)

著者 : Katio Arai¹, Yuki Ono¹, Natsumi Hirai¹, Yuki Sugiura^{2,3}, Keizo Kaneko⁴, Shigeru Matsuda⁵, Keita Ito^{6,7}, Keita Kajino^{6,7}, Tsuyoshi Saitoh^{6,8}, Fan-Yan Wei⁵, Hideki Katagiri⁴, Asuka Inoue^{1,9*}

1 東北大学 大学院薬学研究科

2 京都大学 がん免疫総合研究センター

3 慶應義塾大学 医学部

4 東北大学 大学院医学系研究科

5 東北大学 加齢医学研究所

6 筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構

7 筑波大学 大学院理工情報生命学術院

8 筑波大学 大学院人間総合科学学術院

9 京都大学 大学院薬学研究科

*責任著者 : 東北大学大学院薬学研究科 教授 (京都大学大学院薬学研究科教授併任) 井上飛鳥

掲載誌 : Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease

DOI : <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2024.167566>

【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 (いのうえ あすか)

TEL: 022-795-6861

Email: iaska@tohoku.ac.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

Email: ph-som@grp.tohoku.ac.jp