

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	オーファン GPCR を活性化する腸管内の環境因子由来分子の同定と腸管恒常性への寄与の解明				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏

講演題目	オーファン GPCR を活性化する腸管内の環境因子由来分子の同定と腸管恒常性への寄与の解明
------	-----------------------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

腸管は食物や腸内細菌などの環境因子由来物質が豊富に存在しており、腸管恒常性の維持に寄与すると考えられるが、その総数の膨大さから、個々の生理活性分子の実体については十分な解析がなされていない。G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は生理学的に重要な役割を果たしており、様々な疾患に対する治療薬の標的となっている。GPCR にはリガンドおよび生理機能が不明なオーファン GPCR が多数存在しており、消化管に発現するオーファン GPCR の機能を明らかにできれば新規の消化管疾患治療薬の標的となりえる。公共データベースでの検索結果から、腸管に選択的に発現するオーファン GPCR として GPR20 が推定された。近年、GPR20 は腸管の蠕動運動を制御するカハール介在細胞に由来する間質腫瘍に高発現しており、治療標的となる事が報告された。しかし、生体内における GPR20 の生理機能や発現細胞については未だ不明である。そこで当研究では、GPR20 のレポーターマウスを作製し、腸管における GPR20 発現細胞の同定を試みた。

GPR20 遺伝子の開始コドンが含まれる Exon2 を標的として *tdTomato* 遺伝子の両端に *Gpr20* 遺伝子のゲノム DNA を結合したターゲティングベクターを作製した。このターゲティングベクター、sgRNA および Cas9 遺伝子を含む発現ベクターを受精卵に導入し、CRISPR/Cas9 システムを用いた相同組み換えにより、*Gpr20* 遺伝子を *tdTomato* 遺伝子に置換したレポーターマウスを樹立した。GPR20^{tdTomato/+}マウスの結腸において組織学的解析を行ったところ、筋層の細胞で *tdTomato* の強い発現が認められた他、陰窩近傍で上皮細胞を裏打ちする間質系細胞および上皮細胞の一部で発現が認められた。フローサイトメトリーを用いて *tdTomato*⁺細胞をさらに解析したところ、CD45⁻ CD31⁻ 間質細胞画分のうち、*c-kit*⁺ 細胞や CD140a⁺細胞で *tdTomato* の発現が認められ、筋層の GPR20 発現細胞の一部はカハール介在細胞 (*c-kit*⁺)、陰窩近傍で上皮細胞を裏打ちする間質細胞は上皮細胞の増殖を支持する *telocyte* (CD140a⁺) であると考えられた。

以上の結果から、大腸組織において GPR20 はカハール介在細胞や *telocyte* といった複数の間質細胞で発現しており、大腸の蠕動運動や上皮細胞の維持の制御を介して大腸の恒常性制御に寄与していることが示唆された。