

【施設利用者の研究紹介】

1 次繊毛における中枢性摂食受容体 MCHR1 の機能解析

総合科学研究科 生命科学領域
齋藤祐見子

繊毛とはほとんどすべての細胞に存在する微小管を有する特殊な突起状構造物である。繊毛には運動性繊毛と非運動性繊毛（1 次繊毛）があり、後者は細胞外環境を感知するアンテナとして機能する。1 次繊毛の形成異常は、網膜色素変性症、嚢胞腎、肥満、多指症、水頭症などの繊毛病と呼ばれる様々な疾患を引き起こす。さらに、繊毛病モデル肥満マウス (*BBS4*^{-/-}) やレプチン欠損 *ob/ob* 肥満マウスの神経細胞に局在する 1 次繊毛は、野生型よりも短い。従って、繊毛の「長さ」も生理的に重要な役割を持つことが予測される。一方、中枢神経の 1 次繊毛膜に局在することが確実な非嗅覚型の G タンパク質共役型受容体(GPCR) は非常に限られている。その数少ない GPCR のうちの 1 つがメラニン凝集ホルモン受容体 1 (MCHR1) である。

種々の遺伝子改変マウス/ラット作製や一連の行動薬理解析により、MCHR1 は摂食や情動、睡眠などに関与することが知られている (1)。通常、細胞膜上に局在する MCHR1 を対象とした構造活性相関解析は活発に行われているが、繊毛という非シナプス性の MCH 作用部位に着目した研究はほとんど見当たらなかった。そこで我々は、ヒト網膜色素上皮細胞 (hRPE1) の 1 次繊毛に MCHR1 を強制発現させ、MCH-MCHR1 を介した繊毛動態を解析した。まず、hRPE1 細胞を無血清処理 (G0 期へ誘導) することで 1 次繊毛を伸長させた。その細胞に対し、MCH を 1 時間以上という長時間添加した結果、MCHR1 陽性の 1 次繊毛が短くなる「縮退」現象が起こることを見出した。これは、GPCR の内在性リガンドそのものが繊毛長の短縮を引き起こす初めての報告である。さらに、① 1 次繊毛長の有意な縮退は MCH 添加 3 時間から認められ、添加 6 時間でその縮退率はピークとなる、② 繊毛縮退は MCH 濃度依存的であり、EC50 値は 1nM オーダー以下である、③ 繊毛長と細胞周期は密接に関係するが、MCH 添加は細胞周期に影響しないことを明らかにした。次に、種々の機能アッセイを行い、さらにシグナルバイアス型 MCHR1 変異体 (2) 及び 22 種類の選択的阻害剤を組み合わせることにより、1 次繊毛の縮退に関するシグナルについて検討を行った。その結果、hRPE1 細胞への MCH 添加により、受容体インターナライゼーション、Ca²⁺動員亢進、ERK リン酸化、cAMP 量減少が誘導されたものの、そのいずれも 1 次繊毛縮退には直接的に関与せず、Gi/o 依存的な Akt リン酸化 (T308 及び S473) が縮退初期における鍵分子であることを明らかにした。さらに、モータータンパク質 Kif3A の siRNA 実験から、MCHR1 を介した Akt リン酸化は 1 次繊毛において選択的に機能するシステムである可能性を示した (3)。本研究は 1 次繊毛という「場」における GPCR の機能及び肥満のメカニズム解明に新しい視点を与えるものである。現在、本現象の普遍性について、より *vivo* に近いシステムを構築し、鋭意、解析中である。

- (1) 齋藤祐見子 (2016) メラニン凝集ホルモン受容体—最近の基礎研究における話題
GPCR 研究の最前線 2016 医学のあゆみ 256, 5, 608-615.
- (2) Hamamoto A, Kobayashi Y, Saito Y. (2015) Identification of amino acids that are selectively involved in Gi/o activation by the rat melanin-concentrating hormone receptor 1.
Cellular Signaling, 27, 818-827.
- (3) Hamamoto A, Yamato S, Katoh Y, Nakayama K, Yoshimura K, Takeda S, Kobayashi Y, Saito Y. (2016) Modulation of primary cilia length by melanin-concentrating hormone receptor 1.
Cell Signaling, doi: 10.1016/j.cellsig.2016.02.018. [Epub ahead of print]