
ウシ筋肉内脂肪細胞分化における G タンパク質共役受容体 シグナル伝達機構の解明

明治大学農学部・准教授 溝口 康

■ 目的

G タンパク質共役受容体(G-protein coupled receptor:GPR)は、7回膜貫通型の受容体であり、様々なリガンドと結合することにより細胞シグナル伝達の調節を担っている。短鎖脂肪酸である酢酸・プロピオン酸・酪酸は、GPR41 や GPR43 に結合することが知られている。反芻動物であるウシの筋肉内脂肪における脂肪蓄積や脂肪酸合成には、ルーメン内微生物により生成される短鎖脂肪酸が基点となっている。しかしながらこれら短鎖脂肪酸がウシ筋肉内脂肪細胞分化において、脂肪蓄積や脂肪酸組成にどのような影響を及ぼしているかは不明な点が多い。そこで本研究では、ウシ筋肉内脂肪細胞培養系を用いて、G タンパク質共役受容体ファミリーである GPR41 および GPR43 遺伝子の発現に着目して研究展開することとした。

■ 方法

Aso et al.(1995)が樹立した黒毛和種由来筋肉内脂肪前駆細胞株を用いた。増殖培地において細胞がコンフルエントに達した後、分化誘導培地に変換し、分化誘導後0日とした。継時的変化のサンプリングは0, 3, 6, 9, 12日でおこない、分化誘導初期のサンプリングは0, 6, 12, 24, 48, 54, 72時間で行った。酢酸・プロピオン酸・酪酸(各0mM, 10mM)の影響は、分化誘導後6日目にサンプリングした。解析対象遺伝子は、ウシ GPCR41 および GPCR43 とした。Total RNA を抽出し cDNA 合成後、PCR により DNA 断片を増幅しアガロース電気泳動法において遺伝子発現量を評価した。トリグリセリドの定量は、triglyceride E-test kit(Wako)を用いた酵素法によっておこなった。

■ 結果および考察

分化誘導後0～12日間におけるトリグリセリド含量は、21.5倍に増加した。分化誘導後の継時的な GPR41 遺伝子発現量は、0日～12日間で増加傾向であった。GPR43 遺伝子発現量は、0日～3日間で減少傾向を示しその後変化はなかった。また、分化誘導初期における継時的(0, 6, 12, 24, 48, 54, 72時間後)発現量も測定したが、両遺伝子発現量に大きな変化はなかった。分化誘導後6日目において、10mM プロピオン酸添加時の GPR41 遺伝子発現量は、0mM 添加時と比べて、有意差はないが約1.6倍に増加した。GPR43 遺伝子発現量に変化はなかった。10mM 酢酸添加時の GPR41 遺伝子および GPR43 遺伝子発現量は、0mM 添加時と比べて各々発現量に変化はなかった。10mM 酪酸添加時の GPR41 遺伝子および GPR43 遺伝子発現量は、0mM 添加時と比べて各々発現量に変化はなかった。

■ 結語

本研究によりウシ筋肉内脂肪細胞において、GPR41 および GPR43 遺伝子が発現していることが明らかとなった。今後は、GPR41 および GPR43 遺伝子のノックダウンおよび過剰発現解析等を実施することにより、より詳細な解析をおこなう必要がある。