

## 審査の結果の要旨

野口 韶子

本研究は、リガンドの同定されていないGタンパク質共役型受容体（GPCR）、いわゆる「オーファン GPCR」の脂質リガンド探索を試みたもので、下記の結果を得ている。

1. 幾つかのオーファン GPCR の安定高発現 CHO 細胞株を樹立し、その細胞株に約 200 種類の脂質分子と 17 種類の核酸を作用させたときの細胞内シグナルを調べることにより受容体特異的なリガンドをスクリーニングした。その結果、ヒト GPR23 安定発現細胞がリゾホスファチジン酸（LPA）に反応して細胞内カルシウム濃度を上昇させることを発見した。さらに、LPA が GPR23 発現膜に特異的に結合すること ( $K_d = 45 \text{ nM}$ )、LPA と構造の似た脂質は LPA と GPR23 の結合を阻害しないことから、LPA が GPR23 の特異的リガンドであることを示した。既知の LPA 受容体、 $LPA_1$ 、 $LPA_2$ 、 $LPA_3$ 、が互いに高い相同意を有するのに対して、GPR23/LPA<sub>4</sub> は  $LPA_{1-3}$  と相同意が低いこと、 $LPA_{1-3}$  は LPA による細胞内サイクリック AMP 下降作用を有するのに対して、GPR23/LPA<sub>4</sub> は上昇作用を有すること、の 2 点に特徴を持つ。
2. マウスのオーファン GPCR、GPR23 もまた LPA 受容体であることを、膜結合実験によって示した。 $K_d$  値は 31 nM で、ヒト GPR23/LPA<sub>4</sub> と同程度であった。
3. GPR23/LPA<sub>4</sub> mRNA の発現分布を、ノザンプロットおよび定量的 PCR により示した。GPR23/LPA<sub>4</sub> mRNA は、全身に公済に発現しているが、卵巣、子宮などの雌性生殖器で特に高く発現していた。また、発生中～後期の胎児 (E10.5–18.5) に高く発現していた。さらに脳に限局すると、胎生中期 (E12)、つまり神経発生の初期段階の脳で極めて高く発現しており、発生の進行とともに発現量が急激に減少することが分かった。
4. GPR23/LPA<sub>4</sub> ポリクローナル抗体を作製した。特異性が低く、免疫組織染色などで実際に機能するかは疑問である。
5. GPR23/LPA<sub>4</sub> 遺伝子欠損マウスを作製した。現在のところ、発生や外観、行動、生殖能力などに明らかな異常は観察されていない。

以上、本研究では、オーファン受容体 GPR23 が新規 LPA 受容体 LPA<sub>4</sub> であることを同定した。さらに、それまでの LPA 受容体  $LPA_{1-3}$  とは異なる（反対の）細胞内シグナルを有することを発見し、LPA の新たなシグナル経路の存在を明らかにした。また、雌性生殖器や神経発生初期の脳で高発現していることを明らかにし、雌性生殖系や神経発生・神経分化で機能している可能性を示した。それまでの LPA 受容体  $LPA_{1-3}$  とアミノ酸相同意が低く、細胞内シグナルの異なる LPA 受容体の発見は、LPA 研究に新しい可能性を生み、学位の授与に値するものと考えられる。