

ネコメラノコルチン 4 受容体およびメラノコルチン 2 受容体アクセサリータン
パク質 2 の機能に関する研究

(Study on function of feline melanocortin 4 receptor and melanocortin 2
receptor accessory protein 2)

学位論文の内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
獣医学専攻博士課程平成 27 年入学

羽原 誠

(指導教授：新井 敏郎)

メラノコルチン 4 受容体(MC4R)は中枢神経系に発現し、 α メラニン細胞刺激ホルモン(α -MSH)によるエネルギー恒常性の維持を媒介する G タンパク質共役型受容体(GPCR)である。メラノコルチン 2 受容体アクセサリタンパク質 2(MRAP2)は MC4R の機能を調節する膜タンパク質である。ヒト、マウスにおいて MC4R および MRAP2 遺伝子の多型、変異、欠失は肥満と関連することが知られている。本研究では、ネコ肥満の分子メカニズム解明を目的として、ネコ MC4R および MRAP2 の cDNA クローニング、mRNA 発現解析、相互作用解析、機能解析、一塩基多型(SNP)とボディコンディションスコア(BCS)の関連解析を行った。

MC4R(302 残基)および MRAP2(206 残基)のアミノ酸配列は配列全体で他の哺乳類と高い相同性(>88%)を示した。ネコ MRAP2 には N 末端(N9)および C 末端(N175)に糖鎖付加部位が存在し、N175 はヒト、マウス、ラットには存在しなかった。また、膜貫通領域を挟んで N9、N175 の両部位で糖鎖付加を受けていたことから、逆トポロジー構造を取ることが示唆された。RT-PCR により、MC4R、MRAP2 共に中枢神経系で高い mRNA 発現を示した。シグナル伝達解析の結果、MC4R を発現させた CHO-K1 細胞において、 α -MSH の添加は細胞内 cAMP 産生を用量依存的に増加させ、MRAP2 の共発現は細胞内 cAMP 産生を高めた。また、ネコ MRAP2 に認められた N175 の糖鎖付加状態は MC4R のシグナル伝達に影響を与えた。NanoBiT 法により MC4R、MRAP2 の相互作用を生細胞で経時的に評価した。 α -MSH の添加は、MC4R-MRAP2 間の相互作用に僅かな影響を与えたが、MC4R のホモ二量体形成には影響を与えなかった。MC4R と MRAP2 は基底状態から相互作用していると考えられ、 α -MSH の添加による MC4R の活性化が受容体の構造を変化させ、相互作用に影響したのかもしれない。また MRAP2 の共発現は MC4R のホモ二量体形成に影響を与えなかったことから、MRAP2 による MC4R ホモ二量体形成阻害により MC4R シグナル伝達が増強されるという仮説は否定された。SNP と BCS との間の症例対照研究の結果、MC4R の 3'非翻訳領域に存在する c.*452C/T および MRAP2 遺伝子の 3' 非翻訳領域に存在する c.*543T/G において BCS との関連が認められ、過体重群において c.*452T>C、c.*543G>T の頻度が高かった。

以上のことから、他の哺乳類同様 MC4R は中枢神経系にて α -MSH の受容体

として機能し、**MRAP2** はその機能を調節することで体重制御に関与している可能性が示された。また同定された 2 つの **SNP** は肥満体質を予測するための遺伝子診断用マーカー候補になり得る。