

平成22年3月31日現在

研究種目： 特定領域

研究期間： 2005 ~ 2009

課題番号： 17082008

研究課題名（和文） 細胞外マトリックス分子によるシグナル局在化の分子機構の解明

研究課題名（英文） The role of the extracellular matrix in focal localization of signal molecules

研究代表者 平澤 恵理 (HIRASAWA ERI)

順天堂大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：50245718

## 研究成果の概要（和文）：

細胞外マトリックスが超分子複合体の特異性を決め、細胞内シグナル経路を制御し、細胞の挙動と運命に重要な働きをしていると考えられる。この研究では、細胞外マトリックス分子による超分子複合体形成誘導の解析と機能の分析をすることにより、細胞内シグナル初期過程における分子制御機構の解明を目的とした。神経突起伸長や筋収縮等の事象を例に挙げ解析してきた。また、*in vivo*においては、ラミニンやパールカン等基底膜成分からなる特殊構造fractoneが成体での神経再生シグナルを制御している可能性につきハワイ大学のMercier博士と共同研究を継続してきた。検討したモデル系はいずれも基底膜構造が単なる支持組織でなく、分化や増殖などのシグナルを制御することを示すものである。本研究は特定領域‘細胞外環境’の中で特に細胞外マトリックス分子の機能に焦点を置いた課題であるが、これに関わるメカニカルストレスやカルシウムシグナルなども広義の細胞外環境であり、滑膜細胞にてこれらのシグナルを検討し報告した。筋収縮や筋肥大シグナルに関しても、マイオスタチンシグナルを介して制御していることを報告した。細胞外マトリックスに関わるこれらの成果は本領域の根幹をなすテーマの一つと考えられる。

## 研究成果の概要（英文）：

The extracellular matrix (ECM) plays an important role in cell behavior and fate through the formation of supramolecular complexes and regulation of signal pathways. This research project aimed to analyze the molecular mechanism of the supramolecular complex formation and to define the initial step of cell signal pathways induced by ECM. We have used cell processes of neurite outgrowth and muscle contraction as a model system for the project. In collaboration with Dr. Frederic Mercier of University of Hawaii, we have identified the specialized structure fractone in the adult neurogenic zone that consists of basement membrane components such as laminins and perlecan. Our results revealed that the basement membrane structure provides not only physical support for tissues, but also acts as a signal regulator in the proliferation and differentiation of neural progenitor cells (Krevier et al 2007). We also found that extracellular environments play a role in regulating mechanosensitive channels of synovial cells, which are implicated in the maintenance of joint homeostasis (Sakamoto et al. 2010). We reported that perlecan, which surrounds skeletal muscle, is critical for homeostasis of skeletal muscle, and is a regulator for maintaining muscle fiber types in response to mechanical stress (Xu et al 2010). Our study regarding the role of ECM in maintenance and proliferation of neural

stem cells is being prepared for publication.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	6,700,000	0	6,700,000
2006年度	16,800,000	0	16,800,000
2007年度	16,800,000	0	16,800,000
2008年度	10,000,000	0	10,000,000
2009年度	15,100,000	0	15,100,000
総計	65,400,000	0	65,400,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：細胞の運命と挙動を支配する細胞外環境のダイナミズム

キーワード：

細胞外マトリックス、シグナル分子、ヘパラン硫酸プロテオグリカン、神経、筋

#### 1. 研究開始当初の背景

細胞外マトリックスが超分子複合体の特異性を決め、細胞内シグナル経路を制御し、細胞の挙動と運命に重要な働きをしていると考えられる。

#### 2. 研究の目的

この研究では、細胞外マトリックス分子による超分子複合体形成誘導の解析と機能の分析を具体的な生命事象を例にあげ、解析することにより、細胞内シグナル初期過程における分子制御機構の解明を目的とした。

#### 3. 研究の方法

以下の3つの事象に関して検討を加えた。

1. ラミニン-1による神経突起伸長シグナルの制御
2. 成体脳神経新生ニッチとしての細胞外マトリックスの機能解明
3. 骨格筋パールカンによるメカニカルストレスの制御

#### 4. 研究成果

細胞外マトリックス分子ラミニン-1は、インテグリンシグナルとガングリオシド GM1 と NGF 受容体 (TrkA) の会合による神経成長因子 (NGF) シグナルの二つのシグナルを統合して神経突起伸長シグナルを増幅することを示した。

脳における細胞外マトリックスの存在様式として fractone という基底膜様構造が同定され、神経幹細胞のニッチと考えられる。fractone の神経新生機能を同定するには増殖因子投与や脳損傷負荷に対する反応を検

討している。まず、脳室内への FGF-2 投与による神経細胞の増殖性を検討し、ラミニン $\alpha$ 1 鎖やパールカン遺伝子改変マウスを用い脳神経新生に関わる基底膜マトリックス分子の同定と機能分析を行っている。

ヘパラン硫酸プロテオグリカンであるパールカンは、成長因子、細胞表面受容体と結合して様々な細胞内シグナリングを修飾制御することが示されてきた。1) メカニカルストレスの受容、2) 筋肥大制御分子マイオスタチン (GDF8) への関与に焦点を当て検討したところパールカン欠損筋では選択的免荷、選択的負荷ともより鋭敏に反応することが解った。また、初代培養筋管細胞を用いた *in vitro* の系で、活性型マイオスタチン (GDF8) による smad2/3 のリン酸化が減少していることを示した。これらの結果より、パールカン欠損下にメカニカルストレスを受けての筋肥大、維持に関わるシグナルが変化していることが示唆された。

検討したモデル系はいずれも基底膜構造が単なる支持組織でなく、分化や増殖などのシグナルを制御することを示すものである。本研究は特定領域‘細胞外環境’の中で特に細胞外マトリックス分子の機能に焦点を置いた課題であるが、これに関わるメカニカルストレスやカルシウムシグナルなども広義の細胞外環境であり、滑膜細胞にてこれらのシグナルを検討し報告した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

・原著論文

1. Sasaki T\*, Takagi J, Giudici C, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E, Deutzmann R, Timpl R, Sonnenberg A, Bächinger HP, Tonge D. Laminin-121-Recombinant expression and interactions with integrins. *Matrix Biol.* May 23. [Epub ahead of print] 2010
2. Xu Z, Ichikawa N, Kosaki K, Yamada Y, Sasaki T, Sakai LY, Kurosawa H, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E\*. Perlecan deficiency causes muscle hypertrophy, a decrease in myostatin expression, and changes in muscle fiber composition. *Matrix Biol.* Jun 9. [Epub ahead of print] 2010
3. Namba T, Yabe T, Gonda Y, Ichikawa N, Sanagi T, Arikawa-Hirasawa E, Mochizuki H, Kohsaka S, Uchino S\*. Pigment epithelium-derived factor up-regulation induced by memantine, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, is involved in increased proliferation of hippocampal progenitor cells. *Neuroscience.* 2010 May 5;167(2):372-83. [Epub ahead of print] Jan 28. 2010
4. Sakamoto Y, Ishijima M, Kaneko H, Kurebayashi N, Ichikawa N, Futami I, Kurosawa H, Arikawa-Hirasawa E\*. Distinct Mechanosensitive Ca<sup>2+</sup> Influx Mechanisms in Human Primary Synovial Fibroblasts. *J Orthop Res.* Jan 27[Epub ahead of print] 2010
5. Syu A, Ishiguro H, Inada T, Horiuchi Y, Tanaka S, Ishikawa M, Arai M, Itokawa M, Niizato K, Iritani S, Ozaki N, Takahashi M, Kakita A, Takahashi H, Nawa H, Keino-Masu K, Arikawa-Hirasawa E, Arinami T\*. Association of the HSPG2 gene with neuroleptic-induced tardive dyskinesia. *Neuropsychopharmacology.* 2010 Apr;35(5):1155-64. [Epub ahead of print] Jan 13. 2010.
6. Ichikawa N, Iwabuchi K, Kurihara H, Ishii K, Kobayashi T, Sasaki T, Hattori N, Mizuno Y, Hozumi K, Yamada Y, and Arikawa-Hirasawa E \*. Binding of laminin-1 to GM1 ganglioside in lipid rafts is critical for neurite outgrowth. *J Cell Sci.* Jan 15;122:289-99, 2009
7. Arimura T, Hayashi YK, Murakami T, Oya Y, Funabe S, Arikawa-Hirasawa E, Hattori N, Nishino I and Kimura A\*. Mutational analysis of Fukutin gene in dilated cardiomyopathy and hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation Journal* Jan;73(1):158-61, 2009
8. Kerever A, Schnack J, Vellinga D, Ichikawa N, Moon C, Arikawa-Hirasawa E, Efir JT, Mercier F. Novel Extracellular Matrix Structures in the Neural Stem Cell Niche Capture the Neurogenic Factor FGF-2 from the Extracellular Milieu. *Stem Cells* Sep ;25(9):2146-57. 2007
9. Sher, I., Zisman-Rozen, S., Eliahu L, Whitelock JM, Maas-Szabowski N, Yamada Y, Breitkreutz D, Fusenig NE, Arikawa-Hirasawa E, Iozzo RV, Bergman R, \* Ron D. Targeting perlecan in human keratinocytes reveals novel

roles for perlecan in epidermal formation. *J. Biol. Chem.*, Vol. 281, (8), 5178-5187, February 24, 2006

・総説

1. 平澤恵理 神経筋接合部の機能におけるヘパラン硫酸プロテオグリカンの役割  
生体の科学特集 細胞外基質-研究の新たな展開 (査読無し) 59(2)101-104 2008
2. 平澤恵理 発生や疾患を制御する多機能細胞外マトリックスパルカンの機能解明 医学研究のUP-TO-DATE 順天堂医学 (査読無し) (54) 25-28 2008

[学会発表] (計 10 件)

1. A Symposium on Basement Membranes in Tissue Development and Regeneration July 7-9, 2010(July 9 発表) Vandervilt 大学 Light Hall Nashville, Tennessee 米国
2. A Symposium on Basement Membranes in Tissue Development and Regeneration July 7-9, 2010 Vandervilt 大学 Light Hall Nashville, Tennessee 米国
3. 8<sup>th</sup> Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium Role of perlecan, a heparan sulfate proteoglycan, in skeletal muscle maintenance June 4-7(June6 発表) 2009 Shounan-villedge Kanagawa
4. 8<sup>th</sup> Pan-Pacific Connective Tissue Societies Fractones: specialized extracellular matrix structures governing the stem cell niches. Douet, V., Saint Georges Chaumet, M., Kerever, A., Arikawa-Hirasawa, E., Mercier, June 4-7 2009 Shounan-villedge Kanagawa
5. 7<sup>th</sup> Pan-Pacific Connective Tissue Societies Ganglioside GM1 is essential for laminin-1-induced

neurite outgrowth Cairns  
Australia Oct.28 -Nov 1 2007

6. 7<sup>th</sup> Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium Role of perlecan in neuromuscular activity and Ca<sup>2+</sup> influx in muscle Cairns  
Australia Oct.28 -Nov 1 2007
7. 第 28 回米国骨代謝学会, Synovial Cells Are Induced Intercellular Ca<sup>2+</sup> Influx and Inhibited the Cell Proliferation in Response to Mechanical Stress. Philadelphia, PA, U.S.A., September 15-19, 2006
8. 第 28 回米国骨代謝学会, Perlecan modulates FGF/FGFR signaling in development of the growth plate Philadelphia, PA, U.S.A. September 15-19, 2006
9. Satellite Symposium of IUBMB 2006 -Extracellular Glycomatrix in Health and Disease. Role of perlecan as a modulator in neuromuscular signaling Awaji Japan, June 15-17 2006
10. The American Society for Matrix Biology 27th meeting Special Interest Groups workshop Molecular Mechanisms of Matrix in Inflammation Unexpected Roles of Perlecan in Skeletal Development and Diseases. Nashville Convention Center, Nashville, Tennessee U.S.A. November 1-4, 2006

6. 研究組織

(1)研究代表者

平澤 恵理 (HIRASAWA ERI)

順天堂大学大学院 准教授

研究者番号 : 50245718

(2)研究分担者

岩渕 和久 (IWABUCHI KAZUHISA)

順天堂大学 教授

研究者番号：10184897

(H19→H20 連携研究者)

柳田 光昭 (YANAGIDAMITUAKI)

順天堂大学大学院 准教授

研究者番号：10230012

(H19→H20 連携研究者)

(3)連携研究者