

令和 6 年 5 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06561

研究課題名(和文) プロスタグランジン受容体による微小環境調節を介した新規生理病態制御機構の解明

研究課題名(英文) Physiological and pathological functions of prostaglandin receptors through the regulation of microenvironment

研究代表者

稲住 知明 (Inazumi, Tomoaki)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・助教

研究者番号：80746503

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：細胞外マトリクスは細胞から分泌されたコラーゲン、プロテオグリカンなどから構成され、細胞を支持、保護するだけでなく、細胞の増殖、分化、遊走能などを調節して、様々な生理病態プロセスを制御する。本研究において申請者は、特定のプロスタグランジン受容体が、脂肪組織や骨格筋などをはじめ多くの組織において6型コラーゲンの産生亢進に寄与することを明らかにした。また、6型コラーゲンは種々の遺伝性筋疾患の原因遺伝子として知られていることから骨格筋に着目し、本受容体が骨格筋の形成過程に重要な働きを持つことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

6型コラーゲンは、組織修復や再生に寄与するだけでなく線維症やがんの増悪に極めて重要であることが近年報告され、病態の分子マーカーや治療標的として注目を集めているが、本コラーゲンの発現や産生を調節する機構はほとんど不明であった。本研究成果は、プロスタグランジン受容体による6型コラーゲンの産生調節機構の一端を明らかにしたものであり、その学術的意義は大きい。また、本受容体が骨格筋の恒常性維持に重要な働きを持つことも明らかとなり、本研究成果はサルコペニアなど根治療法のない筋疾患の治療予防を考える上で重要な基礎知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Extracellular matrix, which is composed of collagens and proteoglycans, etc., not only supports and protects cells but also regulates various physiological or pathological processes by controlling cell proliferation, differentiation, and migration. In this study, the researcher found that the specific prostaglandin receptor enhances the production of type 6 collagen in many tissues including white adipose tissue and skeletal muscle. Type 6 collagen has been known to be a responsible gene for hereditary muscular diseases. The researcher therefore evaluated the function of prostaglandin receptor in skeletal muscle and found that the receptor contributes to myogenesis.

研究分野：生化学

キーワード：プロスタグランジン 受容体 コラーゲン 骨格筋

1. 研究開始当初の背景

細胞外マトリクス(**Extracellular matrix: ECM**)は細胞から分泌されたコラーゲン、ヒアルロン酸、プロテオグリカンなどから構成され、物理的な足場として細胞を支持、保護するだけでなく、細胞と相互作用してシグナルを伝達し、細胞の増殖、分化、遊走能などを制御する。**ECM**の分子構成は組織ごとに異なっており、局所ごとに最適化された細胞外微小環境を形成することで、組織の適切な形状や機能が維持される。コラーゲンは**ECM**中の最も主要な構成成分であり、脊椎動物では現在までに**28**種の型が報告され、型によって、形状や役割が異なる。**6**型コラーゲンは主に**a1-a3**鎖の3種の**a**鎖(それぞれ**Col6a1**、**Col6a2**、**Col6a3**にコードされる)から構成される非線維性のコラーゲンであり、短いコラーゲン鎖が数珠つなぎになったマイクロフィブリル構造をとる。**6**型コラーゲンは様々な**ECM**分子やインテグリンなどの細胞膜上受容体と相互作用できるため、**ECM**と細胞の橋渡しを担うと考えられている。本コラーゲンは、組織修復や再生に寄与するほか、組織の線維症やがんの増悪に極めて重要であることが近年報告され、これら病態の分子マーカーや治療標的候補として注目を集めているが、本コラーゲンの発現や産生を調節する機構はほとんど不明であった。

プロスタグランジン(**PG**)**E₂**は生体膜リン脂質からホスホリパーゼ**A2 (PLA₂)**によって切り出されたアラキドン酸からシクロオキシゲナーゼ(**COX**)を律速酵素として産生される最も代表的な生理活性脂質であり、**EP1-EP4**の四種類の受容体に作用することで多彩な生理作用を発揮する。申請者は最近、**EP4**受容体が脂肪細胞の**6**型コラーゲン産生を介して線維形成を促進し、異所性の脂肪蓄積を起こすことを報告した(文献①)。**EP4**欠損マウスの脂肪組織では、野生型に比べ、細胞表面のコラーゲン線維形成が抑制されており、種々のコラーゲン遺伝子の中でも**Col6a3**のみが選択的に発現抑制されていた。こうした背景から、本研究課題において申請者は、**EP4**受容体が**6**型コラーゲンの誘導因子として働き、本コラーゲン依存的に局所微小環境を調節して種々の生理病態プロセスを制御するのではないかと仮説を立てた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、**EP4**受容体による**6**型コラーゲン産生調節の普遍性および分子機構を明らかにし、本コラーゲン調節を介した**PG**の新規生理・病態作用を明らかにすることである。

3. 研究の方法

- (1) **EP4**欠損マウスの各種組織を用いてコラーゲンの発現解析を行い、本受容体による**6**型コラーゲン産生調節の普遍性を確認した。
- (2) 種々の培養細胞を用いて、どのような細胞種あるいは状況において**EP4**受容体が**6**型コラーゲン産生を亢進させるのかを解析した。
- (3) **6**型コラーゲンが関与する生理病態プロセスとして、骨格筋の萎縮、形成過程に着目し、**EP4**受容体が骨格筋の恒常性維持に関与するかを調べた。

4. 研究成果

- (1) **EP4**欠損マウスの各種組織を回収し、**6**型コラーゲン遺伝子**Col6a3**発現を定量**PCR**で調べたところ、これまで明らかにしてきた白色脂肪組織や褐色脂肪組織に加え、肝臓、骨格筋、肺、大腸、脾臓などにおいても野生型と比べて、有意な発現低下が認められた。また、これら組織の中では、骨格筋が最も本コラーゲン分子を豊富に発現していた。
- (2) 種々の培養細胞に対して**EP4**作動薬を添加し、**Col6a3**発現の変動を調べたところ、前駆脂肪細胞株**OP9**、筋芽細胞株**C2C12**、線維芽細胞株**NIH3T3**において、作動薬処理による有意な発現亢進が認められた。興味深いことに、この発現亢進は、高密度培養時や血清除去条件下においてより顕著に認められた。高密度培養かつ血清除去条件下においては、細胞において一次繊毛の形成が亢進することが知られている。一次繊毛はほとんど全ての細胞種に1本生えており、繊毛上に各種受容体やイオンチャネルを搭載することで、外部からの物理的、化学的シグナルを受容し、細胞内にシグナルを伝えるアンテナのような役割を持つ。また、**2014**年に、ゼブラフィッシュにおいて**EP4**受容体が一次繊毛上に局在し、繊毛の形成に関与することが報告されている(文献)ことから、**6**型コラーゲンの産生に繊毛上の**EP4**受容体が関与する可能性が考えられた。実際に血清除去した**OP9**細胞において、抗**EP4**抗体を用いて免疫染色したところ、繊毛マーカーのアセチル化チューブリンと共局在が認められ、本受容体の繊毛局在が確認できた。今後、一次繊毛が**6**型コラーゲンの産生に必要な繊毛を欠失させた細胞を用いて評価していく予定である。

- (3) 骨格筋の再生や形成においては、分化成熟したのちに筋繊維となる筋幹細胞に加え、本細胞の活性化や増殖をサポートする微小環境(ニッチ)が重要な役割を果たす。**Fibro-Adipogenic progenitor (FAP)** は近年発見された骨格筋の間葉系幹細胞様細胞であり(文献)、コラーゲンを産生して幹細胞ニッチを構成する重要な細胞種として注目されている。**6**型コラーゲンは、ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーやベスレムミオパチーなど遺伝性筋疾患の原因遺伝子として知られており、骨格筋の恒常性維持に必須の役割を果たす。そこで申請者は、**EP4** 受容体が6型コラーゲンの産生を介して骨格筋の調節に関与するのではないかと考え、マウス後肢の固定による、廃用性筋萎縮モデルを用いて解析を行った。まず、野生型マウスにおいて骨格筋の6型コラーゲンは筋萎縮により発現が減少し、これは、固定解除後の筋回復期において亢進した。また、興味深いことに **EP4** 受容体発現も筋回復期において有意に亢進していた。そこで、**EP4** 欠損マウスを本モデルに適用したところ、筋萎縮の程度は野生型と同等であったが、筋回復が起こりにくい傾向が認められた。

<引用文献>

Inazumi, T. *et al.*, Prostaglandin E₂-EP4 axis promotes lipolysis and fibrosis in adipose tissue leading to ectopic fat deposition and insulin resistance. *Cell Rep.* 33, 108265. (2020)

Jin D *et al.*, Prostaglandin signalling regulates ciliogenesis by modulating intraflagellar transport. *Nat Cell Biol.* 16, 841-51. (2014)

Uezumi A. *et al.*, Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol.* 12, 143-152. (2010)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Inazumi Tomoaki, Sugimoto Yukihiko	4. 巻 45
2. 論文標題 Metabolic Regulation in Adipocytes by Prostanoid Receptors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 992 ~ 997
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1248/bpb.b22-00270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fleming Thomas, Kikuchi Yukiko, Nakajo Mikoto, Tachizawa Masaya, Inazumi Tomoaki, Tsuchiya Soken, Sugimoto Yukihiko, Saito Daisuke, Suyama Mikita, Ohkawa Yasuyuki, Baba Takashi, Morohashi Ken-ichirou, Okubo Kataaki	4. 巻 5
2. 論文標題 Prostaglandin E2 receptor Ptger4b regulates female-specific peptidergic neurons and female sexual receptivity in medaka	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 1215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-022-04195-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 El-Desoky Ahmed H. H., Inada Natsumi, Maeyama Yuka, Kato Hikaru, Hitora Yuki, Sebe Momona, Nagaki Mika, Kai Aika, Eguchi Keisuke, Inazumi Tomoaki, Sugimoto Yukihiko, Frisvad Jens C., Williams Robert M., Tsukamoto Sachiko	4. 巻 84
2. 論文標題 Taichunins E-T, Isopimarane Diterpenes and a 20-nor-Isopimarane, from <i>Aspergillus taichungensis</i> (IBT 19404): Structures and Inhibitory Effects on RANKL-Induced Formation of Multinuclear Osteoclasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2475 ~ 2485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.1c00486	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maeyama Yuka, Nakashima Yuta, Kato Hikaru, Hitora Yuki, Maki Kazuhiko, Inada Natsumi, Murakami Shunya, Inazumi Tomoaki, Ise Yuji, Sugimoto Yukihiko, Ishikawa Hayato, Tsukamoto Sachiko	4. 巻 84
2. 論文標題 Amakusamine from a Psammocinia sp. Sponge: Isolation, Synthesis, and SAR Study on the Inhibition of RANKL-Induced Formation of Multinuclear Osteoclasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Natural Products	6. 最初と最後の頁 2738 ~ 2743
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jnatprod.1c00758	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Miho, Makino Nagisa, Inazumi Tomoaki, Yoshida Rina, Sugimoto Toshiko, Tsuchiya Soken, Sugimoto Yukihiko	4. 巻 589
2. 論文標題 Effects of an 3 fatty acid-biased diet on luteolysis, parturition, and uterine prostanoid synthesis in pregnant mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 139 ~ 146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2021.12.029	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 稲住知明、杉本幸彦
2. 発表標題 プロスタグランジン受容体による脂質代謝調節の分子機構
3. 学会等名 第63回日本脂質生化学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

熊本大学生命科学研究部薬学生化学分野ホームページ
<http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/Labs/seika/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------