

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08230

研究課題名(和文) プロスタグランジン受容体シグナルによる糖代謝恒常性制御機構の解明

研究課題名(英文) Role of prostaglandin signaling in the control of glucose homeostasis

研究代表者

横出 正之 (YOKODE, MASAYUKI)

京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：20252447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：エネルギー過剰摂取など生活習慣に端を発した2型糖尿病の発症に、炎症機転が極めて重要な役割を果たすことが近年報告されている。我々は、プロスタグランジンE2-EP4受容体シグナルの抗炎症性作用に注目し、2型糖尿病モデル動物に対しEP4受容体選択的アゴニストを継続投与したところ、脂肪組織の炎症抑制及び浸潤マクロファージのM2型への極性シフトとともに、耐糖能が有意に改善することを見いだした。本研究を通じ、EP4受容体シグナルが、マクロファージの活性化制御を通じて2型糖尿病発生の病態生理に大きく関与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：With increasing body weight, macrophages accumulate in adipose tissue, giving rise to chronic inflammation and insulin resistance. In this study, we treated db/db mice with a prostaglandin E2 type 4 receptor (EP4) -selective agonist to explore the role of EP4 signaling in obesity-related inflammation. In the EP4 agonist-treated group, glucose tolerance and insulin resistance were significantly improved. Administration of the EP4 agonist inhibited the accumulation of F4/80-positive macrophages and the formation of crown-like structures, but increased the number of anti-inflammatory M2 macrophages in adipose tissue. In vitro M1/M2 polarization assay showed that treatment with EP4 agonist enhanced M2 polarization in wild-type peritoneal macrophages, whereas EP4-deficient macrophages were less susceptible to M2 polarization. Thus, EP4 signaling plays a critical role in obesity-related adipose tissue inflammation by regulating macrophage recruitment and polarization.

研究分野：先端医療構築学、内科学、老年医学

キーワード：プロスタグランジン マクロファージ 慢性炎症 糖代謝

1. 研究開始当初の背景

世界の糖尿病患者数は3億人超、わが国では700万人を越え「予備群」と合わせて約2,050万人と推計されている。患者数の急増は、糖尿病を背景とした合併症、すなわち腎機能廃絶による透析導入や失明、脳心血管疾患の増加と直結し、QOL低下や医療費増大をもたらす。糖尿病の克服と合併症の予防は、全世界的に極めて重要な喫緊の課題である。

アラキドン酸は、シクロオキシゲナーゼ (COX) やリポキシゲナーゼ (LOX)、チトクローム P450 によってエイコサノイドに代謝され、生体のホメオスタシスの維持や様々な疾患の病態形成に密接に関わっている。中でも、COX 経路の主要代謝産物であるプロスタグランジン E2 (PGE2) は、膵島に最も豊富に発現するエイコサノイドの一つであり、膵細胞機能や細胞死にも関与することが示唆されている (Luo P, et al. Prost Other Lipid Med, 2011)。

我々は、かねてから、トロンボキサン A2 やプロスタサイクリンなどプロスタグランジンの生理作用に着目し、動脈硬化発生における意義を明らかにしてきた (Kobayashi T, et al. J Clin Invest, 2004; Zhuge X, et al. Biochem Biophys Res Commun, 2006)。さらに近年、PGE2 が EP4 受容体を介してマクロファージの炎症性活性化を抑制し、その重要な介在分子として新規 EP4 受容体結合蛋白 EPRAP を同定するに至った (Minami M, et al. J Biol Chem, 2008)。

肥満に伴う脂肪組織や膵島へマクロファージの浸潤・活性化が慢性炎症を引き起こし、インスリン抵抗性や2型糖尿病の原因となることが多数報告されている (Lumeng CN, et al. J Clin Invest, 2007; Kang K, et al. Cell Metab, 2008)。

先行研究では、プロスタグランジンや PGE2 の糖代謝における作用は相反した結果が報告されている。例えば、PGE2 の主要産生酵素である COX-2 選択的阻害薬は、遊離脂肪酸による骨格筋のインスリン抵抗性を悪化させるという報告の一方で (Coll T, et al. Endocrinology, 2010)、普通食下の非肥満マウスでは、長期の COX-2 選択的阻害投与によって、グルコース応答性インスリン分泌の改善を認めたとの報告がある (Fujita H, et al. Biochem Biophys Res Commun, 2007)。以上のことから、我々は、COX 代謝産物のプロスタグランジンおよびその受容体シグナルは、糖尿病の発症と進行の過程において、その誘因や病期に応じて、血糖調節や個体の糖代謝恒常性の制御に極めて密接に関わっているのではないかと、この着想に至った。

2. 研究の目的

個体の糖代謝恒常性の維持は生命に必須の反応であり、様々な生理活性物質や神経系によって複雑かつ高度に調節がなされている。

一方、エネルギー過剰摂取や運動不足など生活習慣に端を発した糖代謝恒常性維持機構の破綻は、糖尿病発症の直接的な要因となる。膵ランゲルハンス島 (膵島) は、血糖調節の中心的役割を果たしており、膵島機能の維持は、糖尿病の治療及び発症予防の中心的命題である。本研究では、プロスタグランジンなど、脂質メディエーターとその受容体シグナルが糖代謝恒常性制御に果たす役割を分子レベルで解明し、新規メカニズムに基づく抗糖尿病薬の開発を目指した探索的研究を行う。

3. 研究の方法

PGE2-EP4 受容体シグナルによる糖代謝恒常性制御機序を検討する。

(A) 薬理的介入や遺伝子改変動物を用いて、in vivo での、EP4 受容体や EPRAP など関連分子の機能を明らかにする。

(B) 培養細胞を用い、マクロファージの表現型変化や細胞への直接作用の有無及びそれらの分子機序を、in vitro で解明する。

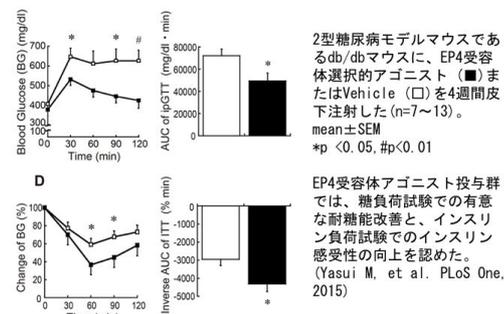
マクロファージの表現型とプロスタグランジン合成や受容体発現の連関を網羅的に検討する。

4. 研究成果

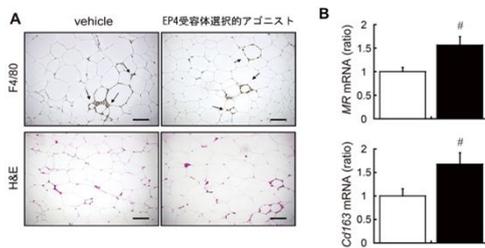
糖代謝恒常性の維持は生命に必須の反応であり、複雑かつ高度に調節がなされている。膵島は血糖調節の中心的役割を果たしており、膵島機能の維持は、糖尿病の治療及び発症予防の中心的命題である。一方、エネルギー過剰摂取など生活習慣に端を発した2型糖尿病 (T2DM) の発症には、マクロファージによる慢性的な炎症機転が極めて重要である。

我々は、プロスタグランジン E2 (PGE2)-EP4 受容体シグナルの抗炎症性作用に注目し、EP4 受容体シグナル活性化を通じたマクロファージの活性化制御による抗糖尿病作用を検証している。本研究で、我々は、まず2型糖尿病モデル動物に対し EP4 受容体アンタゴニストを継続投与し、EP4 受容体刺激による脂肪組織マクロファージの炎症性活性化を抑制し、抗糖尿病作用を示すことを見いだした (【図1】) (【図2】) (Yasui M, et al. PLoS One, 2015)。

【図1】 EP4受容体アゴニスト投与による抗糖尿病作用



【図2】 EP4受容体刺激は、脂肪組織マクロファージの浸潤を抑制しM2型への極性変化をもたらす



(Yasui M, et al. PLoS One, 2015)

引き続き、我々は、EP4 受容体アゴニストを継続投与した 2 型糖尿病モデル動物では、膵臓に浸潤したマクロファージの表現型が炎症型 (M1) から抗炎症型 (M2) にシフトし、グルコース応答性のインスリン分泌が、対照群と比較し著明に改善することを明らかにした。さらに、EP4 受容体刺激は、invitro では、膵 細胞のグルコース応答性インスリン分泌に直接影響を与えないが、マクロファージ細胞株と膵 細胞株との共培養の実験系では、EP4 受容体アゴニストで処理した M1 型マクロファージとの共培養では、対照群と比較し、膵 細胞の炎症性活性化が抑制されることを明らかにした (論文投稿準備中)。

本研究を通じ、PGE2-EP4 受容体シグナルが、脂肪組織や膵島に浸潤したマクロファージの活性化制御を通じてインスリン抵抗性や膵島機能不全を抑制し、肥満を背景とした 2 型糖尿病発生の病態生理に大きく関与することが示唆された。

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)

- ・ Ryu Fukumitsu, M. Minami, K. Yoshida, M. Nagata, M. Yasui, S. Higuchi, R. Fujikawa, T. Ikedo, S. Yamagata, Y. Sato, H. Arai, M. Yokode, S. Miyamoto. 2015. Expression of Vasohibin-1 in Human Carotid Atherosclerotic Plaque. *Journal of Artherosclerosis and Thrombosis*. 2015; 22(9):942-8. doi: 10.5551/jat.29074.
- ・ Hamanishi, J., M. Mandai, T. Ikeda, M. Minami, A. Kawaguchi, T. Murayama, M. Kanai, Y. Mori, S. Matsumoto, S. Chikuma, N. Matsumura, K. Abiko, T. Baba, K. Yamaguchi, A. Ueda, Y. Hosoe, S. Morita, M. Yokode, A. Shimizu, T. Honjo, I. Konishi. 2015. Safety and Anti-tumor Activity of Anti-PD-1 Antibody (Nivolumab:

ONO-4538/BMS-936558) in Patients with Platinum-resistant Ovarian Cancer. *J Clin Oncol*, doi: 10.1200/JCO.2015.62.3397.

- ・ Yasui, M., Y. Tamura, M. Minami, S. Higuchi, R. Fujikawa, T. Ikedo, M. Nagata, H. Arai, T. Murayama, and M. Yokode. The Prostaglandin E2 Receptor EP4 Regulates Obesity-related Inflammation and Insulin Sensitivity. *PLoS One*, 2015 Aug 26;10(8):e0136304. doi: 10.1371/journal.pone.0136304. eCollection 2015. PMID: 26308623
- ・ Nakatsuji, M., M. Minami, H. Seno*, M. Yasui, H. Komekado, S. Higuchi, R. Fujikawa, Y. Nakanishi, A. Fukuda, K. Kawada, Y. Sakai, T. Kita, P. Libby, H. Ikeuchi, M. Yokode, and T. Chiba. 2015. EP4 receptor-associated protein in macrophages ameliorates colitis and colitis-associated tumorigenesis. *PLoS Genet*. 2015 Oct 6;11(10):e1005542. doi: 10.1371/journal.pgen.1005542. eCollection 2015 Oct. PMID: 26439841
- ・ Fujikawa R, S. Higuchi, M. Nakatsuji, M. Yasui, T. Ikedo, M. Nagata, M. Yokode, and M. Minami. EP4 Receptor-Associated Protein in Microglia Promotes Inflammation in the Brain. *Am J Pathol*. 2016. Aug; 186(8):1982-1988. doi: 10.1016/j.ajpath.2016.04.002.
- ・ Higuchi S, R. Fujikawa, T. Ikedo, K. Hayashi, M. Yasui, M. Nagata, M. Nakatsuji, M. Yokode, and M. Minami. EP4 receptor-associated protein (EPRAP) in macrophages protects against bleomycin-induced pulmonary inflammation in mice. *J Immunol*. 2016. Dec 1 ; 197(11):4436-4443. doi:10.4049/jimmunol.1502618
- ・ Fujikawa R, S. Higuchi, T. Ikedo, M. Nagata, K. Hayashi, T. Yang, T. Miyata, M. Yokode, M. Minami. Behavioral abnormalities and reduced norepinephrine in EP4 receptor-associated protein (EPRAP)-deficient mice. *Biochem and Biophys Res Commun*. 2017. Apr 29; 486(2):584-588. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.03.095. Epub 2017 Mar 20.
- ・ Fujikawa R, S. Higuchi, M. Nakatsuji,

M. Yasui, T. Ikedo, M. Nagata, K. Hayashi, M. Yokode, M. Minami. Deficiency in EP4 receptor-associated protein ameliorates abnormal anxiety-like behavior and brain inflammation in a mouse model of Alzheimer's disease. Am J Pathol. 2017 Jun 15. pii: S0002-9440(17)30275-4. doi: 10.1016/j.ajpath.2017.04.010.

. Ikedo T, M. Minami, H. Kataoka, K. Hayashi, M. Nagata, R. Fujikawa, S. Higuchi, M. Yasui, T. Aoki, M. Fukuda, M. Yokode, S. Miyamoto. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Anagliptin Prevents Intracranial Aneurysm Growth by Suppressing Macrophage Infiltration and Activation. J Am Heart Assoc. 2017 Jun 19;6(6). pii: e004777. doi: 10.1161/JAHA.116.004777.

. Fujikawa R, Higuchi S, Nakatsuji M, Yasui M, Yokode M, Minami M. EPRAP: a key regulator of inflammation. Nihon Yakurigaku Zasshi. 2017;150(2):114-115. doi: 10.1254/fpj.150.114.

. Ikedo T, M. Minami, H. Kataoka, K. Hayashi, M. Nagata, R. Fujikawa, F. Yamazaki, M. Setou, M. Yokode, S. Miyamoto. Imaging mass spectroscopy delineates the thinned and thickened walls of intracranial aneurysms. Biochem Biophys Res Commun. 2017 Oct 27. pii: S0006-291X(17)32118-6. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.10.133. [Epub ahead of print]

[学会発表](計6件)

. 南学: 薬剤性心毒性の臨床的重要性。(ランチョンセミナー) 第79回日本循環器学会, 4.24-26. (4.25), 2015, 大阪

. 南学: 「冠動脈危険因子の管理『脂質異常症』」。近畿心血管治療ジョイントライブ (KCJL) 2016, 4.21-23. (4.22), 2016, 京都

. 南学: Onco-Cardiology の国内外の現状と早期診断におけるバイオマーカーの有用性。(シンポジウム指定講演) 第64回日本心臓病学会, 9.23-25. (9.23), 2016, 東京

. 南学: Cardio-Oncology とは。(シンポジウム指定講演) 第65回日本心臓病学

会, 9.29-10.1. (9.29), 2017, 大阪

. 南学: 委員会の運用における課題と対策. 滋賀医科大学臨床研究開発センター 臨床研究法・改正指針への対応ワークショップ, 2.2, 2018, 滋賀

. 南学: 抗がん剤の循環器系への副作用 -Onco-Cardiology の国内外の現状と課題, 第9回日本安全性薬理研究会学術年会, 2.10.2018, 東京

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

横出 正之 (YOKODE, Masayuki)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 20252447

(2) 研究分担者

南学 (MINAMI, Manabu)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 90511907

(3) 連携研究者

亀井 加恵子 (KAMEI, Kaeko)
京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授
研究者番号: 00214544

(4) 研究協力者

()