

令和 3 年 5 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02472

研究課題名（和文）性差と高次生理機能：新規細胞膜上女性ステロイドホルモン受容体の生理病態機能解析

研究課題名（英文）Pathophysiological functions via membrane progesterone receptors

研究代表者

木村 郁夫（Ikuo, Kimura）

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：80433689

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：未だ不明であった性ステロイドホルモンによる多彩な機能のうちの即時性の反応について、本研究成果により、その一端が、細胞膜上のプロゲステロン受容体を介して発揮されていることを明らかにした。今後さらなる研究を進めることにより、性ステロイドホルモンの即時的反応の解明と、それに基づく情動、摂食、リズム、睡眠、そして記憶や学習を含む高次生理機能の理解を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果に基づいて、更にプロゲステロンの細胞膜上受容体の研究を進めることによって、性ステロイドホルモンの即時的反応の解明とそれに基づく生体機能調節機構の解明が可能になると予想される。そして、この研究は乳癌や不妊等の従来の性ステロイド関連疾患治療薬開発だけに留まらず、雌雄差、性差に関連した生活習慣病、睡眠・リズム障害の新規治療パラダイム発見の可能性と、さらにはそれからの美容・健康と化粧品の融合医学への新たな知見を提供すると期待される。

研究成果の概要（英文）：Our study demonstrated that various physiological functions of sex steroid hormone via unknown mechanism partly involve non-genomic effects via membrane progesterone receptors. Further studies will proceed elucidation of molecular mechanism via sex steroid hormone-mediated non-genomic effects and understanding of systemic physiological functions, such as emotion, feeding, rhythm, sleep, memory, and learning, based on this mechanism.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：プロゲステロン GPCR 性ステロイドホルモン受容体 MAPR mPR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

性ステロイドホルモンは性機能への関与だけではなく、母性行動、攻撃行動や情動、摂食、リズム、睡眠、そして記憶や学習を含む高次脳機能に至るまでの多彩な機能に参与していることが明らかになってきた。これら機能には、核内受容体を介した genomic effects では説明のできない即時性の反応が多数関与しており、そのメカニズムは未だ不明である。したがって、我々は近年発見されたプロゲステロンの細胞膜上受容体の mPR および MAPR ファミリーに注目し、性ステロイドホルモンの即時性の反応の解明とそれに基づく生体機能調節機構の発見を目指す。この研究は乳癌や不妊等の従来の性ステロイド関連疾患発症メカニズムだけに留まらず、生活習慣病、睡眠・リズム等の性差が関わる新たな内分泌機構の解明と受容体を標的とした創薬応用の可能性が期待される。さらにはそれからの美容・健康と化粧品の融合医学への新たな知見もまた提供すると期待される。

ステロイドを含む脂質リガンドがその脂質特性にも関わらず細胞膜上にも受容体 (G 蛋白共役型受容体:GPCR) が存在し、その受容体が生体にとって重要な機能を有することが示唆された。我々は特に内分泌代謝分野での GPCR が関わる重要な知見を多数報告している (エネルギー代謝関連: Kimura et al. PNAS. 2011, Ichimura et al. Nature. 2012, Kimura et al. Nature Commun.2013, Ohta et al. Sci Rep. 2015, 生殖神経内分泌関連: Kimura et al. JBC. 2008, Larder et al. MCE. 2013, Hoffmann et al. J Neurosci. 2016, Kasubichi et al. Sci Rep. 2017)。さらに、我々が世界で初めて単離・同定を行った neudesin、neuferricin を含め、世界で唯一、ほぼ全てのプロゲステロン細胞膜上受容体遺伝子欠損マウスを有している利点を生かし、プロゲステロン受容体機能解明に挑む。

2. 研究の目的

我々は本研究において数十年前より存在を予測されていたにも関わらず証明できていなかった女性ステロイドホルモン (特にプロゲステロン) による即時性反応機能の解明と、それによる従来から良く知られている核内受容体では全く説明のつかなかった、母性行動、攻撃行動や情動、摂食、リズム、睡眠に関わる高次生理機能の発現メカニズムについてその新規細胞膜上プロゲステロン受容体に焦点を当てることにより解明を目指す。

3. 研究の方法

我々が独自に作出したプロゲステロン細胞膜上受容体群それぞれの遺伝子欠損マウスや、組織・時期特異的に、この受容体を欠損できるコンディショナル遺伝子欠損マウスを用いて、生理・病態機能解析を行う。さらに、網羅的遺伝子発現解析や各種組織及び局所における性ステロイドホルモン中間代謝産物のメタローム解析等のシステム生物学的手法や受容体特異的作動物質の探索を行うことにより、本プロゲステロン細胞膜上受容体が関与する種々の病態の治療薬創製につながる基礎検討を行う。

具体的には、

1. mPR の脂肪組織におけるエネルギー代謝への影響
2. mPR の生殖神経内分泌への影響
3. mPR の母子間シグナル伝達機能への影響
4. mPR の乳癌・子宮癌へ及ぼす影響

の4つの研究項目を遂行することにより、新規細胞膜上女性ステロイドホルモン受容体である、プロゲステロン受容体 (mPR、MAPR) の生理・病態における機能を解明し、乳癌・不妊治療薬開発への応用および、新たな視点からの生活習慣病、睡眠・リズム障害の新規治療薬開発への新たな知見を提供することを目指す。

4. 研究成果

1. mPR の脂肪組織におけるエネルギー代謝への影響

我々は、特定の mPR が成熟脂肪細胞特異的に高発現をしていることに着目し、この mPR の遺伝子欠損マウスを作成することによって脂肪組織での機能についての検討を行った。雌雄ともに脂肪組織で発現しているこの mPR は、遺伝子欠損マウスでは、野生型マウスと比較して、通常食摂取群や高脂肪食摂取群においても、最終的には特に際立った代謝機能の異常は観察されなかった。しかしながら、雄マウスへのプロゲステロン投与や、雌マウスへの偽妊娠環境下において、野生型マウスに見られるようなインスリン感受性に対するプロゲステロン影響が遺伝子欠損マウスでは変化することがわかった。したがって、通常環境下ではなく、リガンドであるプロゲステロン濃度が変動するような生理的環境に伴って、その機能が発動するような受容体の性質を有していることが予測された。また、脂肪細胞における in vitro でのこの mPR の分子メカニズムの検討では、脂肪細胞分化自体へ直接的に関わっているのではなく、むしろ成熟脂肪細胞

においてのインスリンシグナルに関与する結果、インスリン感受性に影響を与える可能性を見出した。今後は、妊娠時におけるこの mPR 受容体と母体のインスリン感受性・血糖変動との相関関係、さらには胎児に及ぼす影響について最終的な検討を行った後、論文として本成果を纏める予定である。

2. mPRb の生殖神経内分泌への影響

中枢神経系特異的に発現している 2 種の mPR に関して、それぞれの遺伝子欠損マウスにおける機能解析を行った。視床下部の特定神経核に発現している mPR の遺伝子欠損マウスに関しては、高脂肪食負荷において、野生型マウスと比較して、有意な体重の増加が確認できた。このマウスでは、摂食行動に何らかの異常をきたしている可能性が示唆されたので、今後、摂食行動とプロゲステロン・性差の観点から、この受容体が関わる詳細な分子メカニズムを明らかにしていく予定である。また、中枢神経系特異的に発現しているもう一つの mPR に関しては、嗅上皮細胞から、中枢神経における特定神経細胞特異的な発現が確認できたことから、この mPR が関わるさらなる詳細な神経回路網を特定するべく、mPR-GFP トランスジェニックマウスの作成を行った。今後、このトランスジェニックマウスを用いて、神経回路網の可視化を行うことによって、mPR の関係する神経ネットワークを明らかにし、生体生理機能への影響について詳細な検討を行っていく予定である。

3. mPR の母子間シグナル伝達機能への影響

生後の皮膚特異的に高発現する mPR 遺伝子欠損マウスは、野生型マウスと比較して、皮膚組織において雌雄で異なった異常を示すことがわかった。さらにこの mPR の皮膚組織中における発現細胞の絞り込みも完了した。今後は、セルソーティングにより、この mPR 発現細胞を用いた細胞レベルでのプロゲステロン-mPR 分子シグナルについて詳細に検討していく予定である。また、同時に、この mPR 遺伝子欠損マウスを用いて剃毛などにより毛の発育に与える影響を個体レベルで検討を行うことによって、プロゲステロンと皮膚・発毛への mPR の関与について明らかにしていく予定である。

4. mPR の乳癌・子宮癌へ及ぼす影響

MAPR ファミリーの癌細胞における発現とその機能に関していくつかの報告があるが、mPR に関しては未だほとんど知られていない。当初の研究計画である MAPR での検討に加え、我々は mPR ファミリーにおいても癌への関与について検討を行った。結果、mPR の中でも特定のものが、腸管上皮細胞癌特異的に高発現していることを見出した。この癌細胞において CRISPR CAS9 により mPR の欠損細胞株の作成を行ったので、引き続き、細胞レベルでの癌化におけるプロゲステロンと mPR の分子メカニズム解明を進めるとともにこの mPR 遺伝子欠損マウスを用いて個体レベルでの機能解析も行う予定である。

以上のように、3 年の研究期間を通して、COVID-19 の影響により研究・実験が滞った時期もあったが、全体的には研究は順調に進行し、成果は得られた。本研究テーマのいくつかにおいては、ほぼ完了し、目的を達成していることから、今後、早急に論文執筆および公表に繋げていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kimura Ikuo, Ichimura Atsuhiko, Ohue-Kitano Ryuji, Igarashi Miki	4. 巻 100
2. 論文標題 Free Fatty Acid Receptors in Health and Disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physiological Reviews	6. 最初と最後の頁 171 ~ 210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/physrev.00041.2018	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 Ohue-Kitano Ryuji, Taira Satsuki, Watanabe Keita, Masujima Yuki, Kuboshima Toru, Miyamoto Junki, Nishitani Yosuke, Kawakami Hideaki, Kuwahara Hiroshige, Kimura Ikuo	4. 巻 11
2. 論文標題 3-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)propionic Acid Produced from 4-Hydroxy-3-methoxycinnamic Acid by Gut Microbiota Improves Host Metabolic Condition in Diet-Induced Obese Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 1036 ~ 1036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu11051036	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 Watanabe Keita, Igarashi Miki, Li Xuan, Nakatani Akiho, Miyamoto Junki, Inaba Yuka, Sutou Asuka, Saito Tsutomu, Sato Takumi, Tachibana Nobuhiko, Inoue Hiroshi, Kimura Ikuo	4. 巻 13
2. 論文標題 Dietary soybean protein ameliorates high-fat diet-induced obesity by modifying the gut microbiota-dependent biotransformation of bile acids	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0202083
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0202083	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 Igarashi Miki, Watanabe Kazuhide, Tsuduki Tsuyoshi, Kimura Ikuo, Kubota Naoto	4. 巻 33
2. 論文標題 NAPE-PLD controls OEA synthesis and fat absorption by regulating lipoprotein synthesis in an in vitro model of intestinal epithelial cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 3167 ~ 3179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201801408R	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3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木村 郁夫
2. 発表標題 食由来栄養素と脂肪酸受容体
3. 学会等名 第92回 日本内分泌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村郁夫
2. 発表標題 性ステロイドホルモンによる即時性反応を介した高次生理機能
3. 学会等名 第45回 日本毒性学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村郁夫
2. 発表標題 腸内細菌代謝産物と宿主エネルギー代謝ネットワークの統合的理解
3. 学会等名 Visionary農芸化学100（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計4件

1. 著者名 宮本 潤基、吉本 亜由美、渡辺 啓太、木村 郁夫、長谷 耕二	4. 発行年 2020年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 120
3. 書名 臨床免疫・アレルギー科	

1. 著者名 渡辺 啓太、宮本 潤基、長谷 耕二、木村 郁夫	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医歯薬出版	5. 総ページ数 70
3. 書名 医学のあゆみ	

1. 著者名 清水 秀憲、大植 隆司、木村 郁夫	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカルビュー社	5. 総ページ数 72
3. 書名 CARDIAC PRACTICE	

1. 著者名 木村郁夫	4. 発行年 2018年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 246
3. 書名 脂質クオリティ (有田誠編)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京農工大学 木村研究室 http://web.tuat.ac.jp/~kimura/ 京都大学 木村研究室 http://www.biosystem.lif.kyoto-u.ac.jp/</p>

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
---------	---------