

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11728

研究課題名(和文) 補酵素PQQで惹起されるレドックスシグナルによる細胞外マトリックスリモデリング

研究課題名(英文) Extracellular matrix remodeling by redox signaling induced by coenzyme PQQ

研究代表者

笹倉 寛之 (Sasakura, Hiroyuki)

愛知医科大学・医学部・特別研究助教

研究者番号：50751616

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)：本申請者らの発見である補酵素PQQとそのエフェクターであるレドックスシグナルとコンドロイチン硫酸を手掛かりに、細胞外マトリックス(ECM)リモデリングの研究を行った。PQQが*in vitro*の系で、ECMの主要成分であるコラーゲン、コンドロイチン硫酸の発現を低濃度条件で上昇させた。PQQの効果を検証するために共培養細胞凝縮系を確立した。線虫*C. elegans*にPQQを投与することで表皮の傷修復を促進することを個体レベルで示した。PQQ誘導体を化学合成し、その中の一つがPQQに比べ dualoxidase 活性化能を上昇させること、過剰投与による生体毒性を大幅に軽減させることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

補酵素PQQは緑茶など多くの食材に含まれ、サプリメントとして流通している機能性食品素材である。本研究でPQQが細胞外マトリックス主成分であるコラーゲン、コンドロイチン硫酸の発現を促進することを見出した。さらに線虫モデルにおいて皮膚損傷をPQQにより修復しうることを見出した。PQQは化粧品・点眼薬にも成分として含まれており、これらの結果は科学的にPQQがQOL向上に役立つことを裏づける。また、本研究においてPQQ化学修飾により従来の活性を増強し、安全性をより高める物質が得られることを示した。補酵素であり高機能素材であるPQQの化学修飾によりQOL向上につながる物質が得られる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Based on our discovery of the coenzyme PQQ and its effectors, redox signaling and chondroitin sulfate, we investigated extracellular matrix (ECM) remodeling. PQQ upregulated the expression of collagen and chondroitin sulfate, the major components of ECM, under low concentration conditions in *in vitro* system. A co-culture cell aggregation system was established to verify the effect of PQQ. PQQ derivatives were chemically synthesized and one of them was found to increase dualoxidase activation ability and significantly reduce biotoxicity under overdose conditions.

研究分野：細胞生物学、再生医学

キーワード：細胞外マトリックス PQQ dualoxidase 再生・修復 化学誘導体 糖鎖 活性酸素

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

細胞外マトリックス (ECM) は組織・器官の発生・維持・再生に重要な役割をはたしている。静的な構造体と考えられてきた ECM が、ECM リモデリングとよばれる動的変化により再生・感染防御・個体の寿命延長など多彩な生命現象に積極的に関与することが近年明らかになっている。しかしながら、その制御メカニズムは不明であった。また細胞外マトリックス分子の発現を人為的に操作することにより積極的に生命現象に介入できる可能性が考えられた。

2. 研究の目的

本申請者らの独自の発見である補酵素 PQQ (Pyrroloquinoline quinone) (図 1) とそのエフェクターであるレドックスシグナルとコンドロイチン硫酸を手掛かりに未開拓な ECM リモデリング制御を解明すること、さらに細胞外マトリックス分子を人為的に操作することで新規機能を賦活化することを目指した。

PQQ (Pyrroloquinoline quinone)

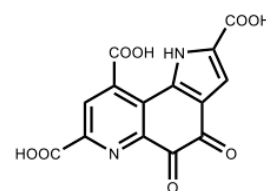


図1. PQQの化学構造

3. 研究の方法

補酵素 PQQ がマトリックスの代表的分子であるコラーゲンおよびコンドロイチン硫酸の発現を制御するか *in vitro* で検証した。補酵素 PQQ 投与による個体に対する効果を線虫 *C. elegans* を用いて検証した。哺乳類培養細胞系において PQQ の効果を検証するために共培養細胞凝縮系の確立を行った。コラーゲンのクロスリンクに必須な活性酸素合成酵素 dualoxidase を PQQ が活性化することを本申請者らはすでに示している。PQQ の化学誘導体 dualoxidase 活性化能を変化させるか検証した。さらに誘導体の生体に対する安全性を検証した。

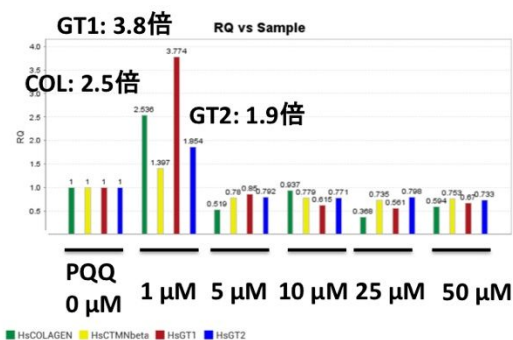


図2. コラーゲン (COL)、コンドロイチン硫酸合成酵素 (GT1, GT2) の mRNA の発現が低濃度 PQQ 処理により上昇した。

4. 研究成果

PQQ 投与により、代表的なマトリックス分子をコードするコラーゲン遺伝子、コンドロイチン硫酸合成系の酵素をコードする遺伝子の mRNA の発現を *in vitro* において上昇させた(図 2)。PQQ 投与により線虫 *C. elegans* の表皮形成異常を示す突然変異体の表現型を回復させた(図 3)。PQQ によるコンドロイチン硫酸・コラーゲンの発現誘導およびそれに伴う細胞動態を解析する目的で、共培養細胞凝縮系の確立を行った。この系は *in vitro* における癒痕形成を模倣していると考えられた。また、PQQ の化学誘導体を複数合成し、dualoxidase 活性化能および薬剤安全性を検証した。誘導体の一つが、dualoxidase 活性化能を上昇させ、さらに各種細胞株およびマウス個体に対して大量投与時の toxicity を大幅に減少させた(図 4)。

	皮膚異常出現率
コントロール	20% (n=40)
PQQ 投与	7% (n=42)

図3. 線虫 *C. elegans* の表皮異常変異体の表現型をPQQ投与でレスキューした

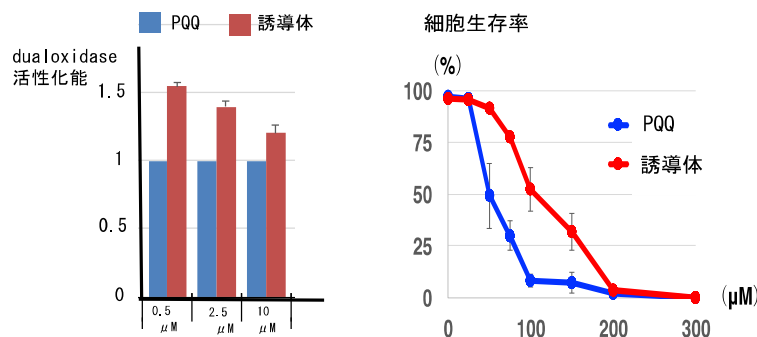


図4. PQQ誘導体は dualoxidase 活性化能を上昇させた

過剰投与時の細胞毒性を大きく軽減させた

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 K. Suzuki, J. Elegheert, I. Song, H. Sasakura., O. Senkov, K. Matsuda, W. Kakegawa, A. J Clayton, V. T Chang, M. Ferrer-Ferrer, E. Miura, R. Kaushik, M. Ikeno, Y. Morioka, Y. Takeuchi, T. Shimada, S. Otsuka, S. Stoyanov, M. Watanabe, K. Takeuchi, A. Dityatev, A. Radu Aricescu, M. Yuzaki	4. 巻 369(6507)
2. 論文標題 A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 1074-1091
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abb4853.	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 該当する

1. 著者名 Shunnosuke Kunoki, Hideki Tatsukawa, Yukinao Sakai, Hiroshi Kinashi, Tetsuyoshi Kariya, Yasuhiro Suzuki, Masashi Mizuno, Makoto Yamaguchi, Hiroyuki Sasakura, Masashi Ikeno, Kosei Takeuchi, Takuji Ishimoto, Kiyotaka Hitomi, Yasuhiko Ito	4. 巻 Volume 103, Issue 4
2. 論文標題 Inhibition of Transglutaminase 2 Reduces Peritoneal Injury in a Chlorhexidine-Induced Peritoneal Fibrosis Model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lab Invest.	6. 最初と最後の頁 100050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.labinv.2022.100050	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 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroyuki Sasakura, Kunimichi Suzuki, Masashi Ikeno, Yuki Morioka, Yuka Takeuchi, Michisuke Yuzaki, Kosei Takeuchi
2. 発表標題 Rapid and robust recovery from spinal cord injury by manipulating ECM factors: Down-regulation of repulsive factor CSPG and Synapse connect by CPTX
3. 学会等名 第44回分子生物学会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹倉 寛之, 鈴木 邦道, 池野 正史, 森岡 幸, 武内 由佳, 柚崎 通介, 武内 恒成
2. 発表標題 人為的シナプス架橋と神経再生環境整備による失われた脊髄機能の回復
3. 学会等名 第43回神経組織培養研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasakura, Kunimichi Suzuki, Masashi Ikeno, Yuki Morioka, Yuka Takeuchi, Michisuke Yuzaki, Kosei Takeuchi
2. 発表標題 The recovery from the late-phase of Spinal Cord Injury by synapse connect and environmental improvement for neural regeneration
3. 学会等名 第44回日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹倉 寛之, 鈴木 邦道, 池野 正史, 森岡 幸, 武内 由佳, 柚崎 通介, 武内 恒成
2. 発表標題 Rapid and robust recovery from spinal cord injury: cocktail treatment for re-wiring and against repulsion
3. 学会等名 NEURO 2020 第43回 日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池野 正史, 笹倉 寛之, 武内 恒成
2. 発表標題 Development of hTERT-expanded cell-based regenerative medicine in neurological diseases and spinal cord injury hTERT
3. 学会等名 NEURO 2020 第43回 日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹倉 寛之, 鈴木 邦道, 池野 正史, 森岡 幸, 武内 由佳, 柚崎 通介, 武内 恒成
2. 発表標題 シナプスコネクターCPTXと再生抑制因子コンドロイチン硫酸の操作による脊髄損傷回復
3. 学会等名 第42回神経組織培養研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹倉 寛之, 鈴木 邦道, 池野 正史, 森岡 幸, 武内 由佳, 柚崎 通介, 武内 恒成
2. 発表標題 中枢神経損傷再生回復にむけたシナプスコネクターCPTXと反発因子の操作
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池野 正史, 鈴木伸卓, 笹倉 寛之, 武内 恒成
2. 発表標題 Development of hTERT-expanded primary cells and cell-based regenerative medicine
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 笹倉 寛之, 池野 正史, 森岡 幸, 武内 由佳, 森 郁恵, 武内 恒成
2. 発表標題 ピロロキノリンキノンおよびポリフェノールにより惹起されるコンドロイチン硫酸の発現促進による神経機能制御
3. 学会等名 NEURO 2019 日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroyuki Sasakura, Masashi Ikeno, Yuki Morioka, Yuka Takeuchi, Ikue Mori, Kosei Takeuchi
2. 発表標題 Neural functions with Chondroitin sulfate enhancement by Pyrroloquinoline quinone and polyphenols
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分 担 者	武内 恒成 (Takeuchi Kosei) (90206946)	愛知医科大学・医学部・教授 (33920)	

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