

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 17 日現在

機関番号：12611  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22790203  
 研究課題名(和文) 生理活性脂質 2ccPA を用いた LPA 受容体による TRP チャンネル活性制御機構の解明  
 研究課題名(英文) Investigation of the mechanism of TRP channel mediated by a lipid mediator, 2ccPA, via LPA receptor

研究代表者  
 後藤 真里 (GOTOH MARI)  
 お茶の水女子大学・サイエンス&エデュケーションセンター・研究協力員  
 研究者番号：80467050

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、我々が *in vivo* 系の実験で明らかにしている環状ホスファチジン酸 (cPA) とその誘導体 (2ccPA) の持つ鎮痛作用について、その作用機序を明らかにすることを旨とした。解析の結果、2ccPA による LPA5 受容体の活性化は TRPV1 の活性化には影響を与えないことが示唆された。今後、他の TRP チャンネル活性化に与える 2ccPA の影響を調べて行く。

研究成果の概要(英文)：We have been indicated that cyclic phosphatidic acid, cPA, and its derivative, 2ccPA, are potent inhibitors of nociceptive transmission by C-primary afferents, and reverse inflammatory and neuropathic pain. In this research, we aimed to clarify the molecular mechanism of analgesic function of cPA and 2ccPA. We found that the activation of LPA5 receptor by 2ccPA does not affect the activation of TRPV1. Therefore, we are going to examine the effect of 2ccPA on the other TRP channel activation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：細胞生物学

科研費の分科・細目：生理学

キーワード：環状ホスファチジン酸、生理活性脂質

## 1. 研究開始当初の背景

『痛み』は、身体の異常を知らせる警告として機能し、不快な感覚と情動体験を伴う。時に過度の不快な感覚は人々の Quality of Life (QOL) を大いに低下させるため、慢性痛

は痛みそのものが治療の対象となる。現在、痛みを引き起こす原因のひとつとして、リゾホスファチジン酸 (LPA) とその合成酵素オートタキシン (ATX) の関与が注目されている。近年、我々は新規脂質メディエーター・環状

ホスファチジン酸 (cPA) による痛み抑制効果について研究を進め、cPA が C 線維を介した痛みを抑制することを発見した。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、我々が *in vivo* 系の実験で明らかにしている環状ホスファチジン酸 (cPA) とその誘導体 (2ccPA) の持つ鎮痛作用について、その作用機序を明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

TRP チャンネルを発現させた細胞にチャンネル活性測定用イオンインジケータを取り込ませ、痛み刺激に伴うチャンネルの活性化を、刺激前後の蛍光量の変化で測定する方法を用いて、cPA が痛み刺激が引き起こす TRP チャンネルの活性化に与える影響を調べる。このとき、2ccPA はいくつかのリゾホスファチジン酸受容体を活性化することが知られていることから、TRP チャンネルを発現させた細胞に LPA 受容体を共発現させる。

## 4. 研究成果

解析の結果、2ccPA による LPA5 レセプターの活性化は TRPV1 の活性化には影響を与えないことが示唆された。

本研究課題の最終目的は、cPA 誘導体を疼痛治療へ応用させることである。これまでに我々は種々の cPA 誘導体を合成してきた。今回は、2ccPA のほかに 3ScPA を合成し、3ScPA の痛み抑制効果の有無、またその強度についても検討した。3ScPA は cPA と同様に痛み抑制効果を持つことが明らかになった。しかしながら、その効果は 2ccPA には及ばなかったことから 2ccPA が現在のところ最も痛み抑制効果が強い cPA 誘導体であることが示された。

## 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 15 件)

### (1) 室伏きみ子、後藤真里

環状ホスファチジン酸に基づく安全で効果的な疼痛治療薬の開発

Development of the safe and effective analgesic based on cyclic phosphatidic acid

化学工業 2013 年 4 月、第 64 巻、第 4 号、6-11、査読無

### (2) 後藤真里、室伏きみ子

脂質メディエーター・環状ホスファチジン酸 (cPA) の痛み抑制効果とその医療応用への展望

Antinociceptive effect of lipid mediator, cyclic phosphatidic acid (cPA), and future prospects in medical applications

CMC 出版、月刊バイオインダストリー2012 年 2 月号、46-52、査読無

### (3) Mari GOTOH, Katsura SANO-MAEDA, Hiromu MUROFUSHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Protection of neuroblastoma Neuro2A cells from hypoxia-induced apoptosis by cyclic phosphatidic acid (cPA)”

*PLoS ONE*, 7, (12), e51093, 2012, 査読有  
DOI: 10.1371/journal.pone.0051093

### (4) Emi NOZAKI, Mari GOTOH, Ryo TANAKA, Masaru KATO, Takahiro SUZUKI, Atsuo NAKAZAKI, Harumi HOTTA, Susumu KOBAYASHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Pharmacological evaluation of a novel cyclic phosphatidic acid derivative 3-S-cyclic phosphatidic acid (3-S-cPA)”

*Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20, 3196-3201, 2012, 査読有

DOI: 10.1016/j.bmc.2012.03.060

### (5) Mari GOTOH, Yuko FUJIWARA, Junming YUE, Jianxiong LIU, SueChin LEE, James FELLOWS, Ayako UCHIYAMA, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI, Stephen KENNEL, Jonathan WALL, Renukadevi PATIL, Renuka GUPTA, Louisa BALAZS, Duane D. MILLER, Gabor J. TIGYI

“Controlling cancer through the autotaxin-lysophosphatidic acid receptor axis”

*Biochem. Soc. Trans.* 40, (1), 31-36, 2012  
 , 査読有

DOI: 10.1042/BST20110608

(6) Ryo TANAKA, Masaru KATO, Takahiro SUZUKI, Atsuo NAKAZAKI, Emi NOZAKI, Mari GOTOH, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI, Susumu KOBAYASHI

“Efficient synthesis of 3-*O*-thia-cPA and preliminary analysis of its biological activity toward autotaxin”

*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 4180-4182, 2011, 査読有

DOI: 10.1016/j.bmcl.2011.05.083

(7) Yasutaka KAKIUCHI, Jun NAGAI, Mari GOTOH, Harumi HOTTA, Hiromu MUROFUSHI, Tomoyo OGAWA, Hiroshi UEDA, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“The anti-nociceptive effects of cyclic phosphatidic acid and its derivative in animal models of acute and chronic pain”

*Molecular Pain*, 7, 33, 2011, 査読有

DOI: 10.1186/1744-8069-7-33

(8) Hisako AKIYAMA, Narie SASAKI, Shuwa HANAZAWA, Mari GOTOH, Susumu KOBAYASHI, Yoshio HIRABAYASHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Novel sterol glucosyltransferase in the animal tissue and cultured cells: Evidence that glucosylceramide as glucose donor”

*Biochem Biophys Acta- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811 (5), 314-322, 2011, 査読有

DOI: 10.1016/j.bbalip.2011.02.005

(9) Emi NOZAKI, Mari GOTOH, Shuwa HANAZAWA,

Hirotoishi MORI, Susumu KOBAYASHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Comparison of inhibitory activities of stereo-isomers of cyclic phosphatidic acid (cPA) on autotaxin”

*Cytologia*, 76 (1), 73-80, 2011, 査読有

(10) Emi NOZAKI, Mari GOTOH, Harumi HOTTA, Shuwa HANAZAWA, Susumu KOBAYASHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Synthesis of enantiopure 2-carba-cyclic phosphatidic acid and effects of its chirality on biological functions”

*Biochem Biophys Acta- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1811 (4), 271-277, 2011, 査読有

DOI: 10.1016/j.bbalip.2011.01.003

(11) Mari GOTOH, Norito KOTANI, Munehisa TAKAHASHI, Tomoko OKADA, Yoshikatsu OGAWA

“ Enlargement of influenza virus hemagglutinin cytoplasmic tail by tagging with an enhanced green fluorescent protein interferes with hemagglutinin-mediated membrane fusion prior to the lipid-mixing step”

*Cytologia*, 75(4), 435-442, 2010, 査読有

(12) Renuka GUPTA, Anjaih SIDDAM, Yan LU, Wei LI, Yuko FUJIWARA, Nattapon PANUPINTHU, Truc-Chi PHAM, Daniel L. BAKER, Abby L. PARRILL, Mari GOTOH, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI, Susumu KOBAYASHI, Gordon B. MILLS, Gabor TIGYI, Duane D. MILLER

“ Synthesis and pharmacological evaluation of the stereoisomers of 3-carba cyclic-phosphatidic acid”

*Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*,  
20: 7525-7528, 2010, 査読有  
DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.09.115

(13) Mari GOTOH, Harumi HOTTA, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Effects of cyclic phosphatidic acid on delayed neuronal death following transient ischemia in rat hippocampal CA1”  
*European Journal of Pharmacology*, 649: 206-209, 2010, 査読有  
DOI: 10.1016/j.ejphar.2010.09.052

(14) Zhaohong YIN, Laura D. CARBONE, Mari GOTOH, Arnold POSTLETHWAITE, Alyssa L. BOLEN, Gabor J. TIGYI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI, Mitchell A. WATSKY

“Lysophosphatidic acid-activated Cl<sup>-</sup> current activity in human systemic sclerosis skin fibroblasts”  
*Rheumatology*, 49: 2290-2297, 2010, 査読有  
DOI: 10.1093/rheumatology/keq260

(15) William J. VALENTINE, Gyöngyi N. KISS, Jianxiong LIU, Shuyu E, Mari GOTOH, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI, Truc-Chi PHAM, Daniel L. BAKER, Abby L. PARRILL, Xuequan LU, Chaode SUN, Robert BITTMAN, Nigel PYNE, Gabor TIGYI

“(S)-FTY720-Vinylphosphonate, an analogue of the immunosuppressive agent FTY720, is a pan-antagonist of sphingosine 1-phosphate GPCR signaling and inhibits autotaxin activity”  
*Cellular Signaling*, 22: 1543-1553, 2010, 査読有  
DOI: 10.1016/j.cellsig.2010.05.023

[学会発表] (計 18 件)

(1) 前田桂、後藤真里、室伏きみ子

「高浸透型 cPA の真皮線維芽細胞への影響」  
第 13 回人間情報学会講演会、東京、2012/12/17

(2) 後藤真里、内山綾子、藤原優子、Junming YUE, Gabor TIGYI, 室伏きみ子

「オートタキシンノックダウンによるがん細胞の浸潤・転移への影響」  
第 12 回人間情報学会講演会、東京、2012/9/11

(3) 前田桂、後藤真里、堀田晴美、室伏擴、室伏きみ子

「cPA による海馬の遅発性神経細胞死抑制効果作用の分子機構の解明」  
第 9 回人間情報学会講演会、東京、2011/12/12

(4) 秋山央子、佐々木成江、濱田勉、花澤修和、後藤真里、長塚靖子、小林進、平林義雄、室伏きみ子

「動物細胞の熱ストレス情報伝達に関与する新規コレステリルグルコシド (CG) 合成酵素」  
第 8 回人間情報学会講演会、東京、2011/9/6

(5) 野崎絵美、後藤真里、堀田晴美、花澤修和、森寛敏、鈴木孝洋、小林進、室伏きみ子

「環状ホスファチジン酸 (cPA) 誘導体の生理作用について」  
第 8 回人間情報学会講演会、東京、2011/9/6

(6) Mari GOTOH, Harumi HOTTA, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Effects of cyclic phosphatidic acids on delayed neuronal death following transient ischemia in rat hippocampal CA1”

第 63 回日本細胞生物学会大会、北海道、  
2011/6/27-29

(7) Emi NOZAKI, Mari GOTOH, Harumi HOTTA,  
Shuwa HANAZAWA, Hirotoshi MORI, Takahiro  
SUZUKI, Susumu KOBAYASHI, Kimiko  
MURAKAMI-MUROFUSHI

“Synthesis of enantiopure 2-carba-cyclic  
phosphatidic acid and investigation of its  
biological functions”

第 63 回日本細胞生物学会大会、北海道、  
2011/6/27-29

(8) Katsura MAEDA-SANO, Mari GOTOH, Hiromu  
MUROFUSHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Effects of cyclic phosphatidic acid on  
apoptosis of neuroblastoma”

第 63 回日本細胞生物学会大会、北海道、  
2011/6/27-29

(9) Yuko UEDA, Hisako AKIYAMA, Mari GOTOH,  
Shun WATANABE, Yoshio HIRABAYASHI, Hiromu  
MUROFUSHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Deletion of glucosylceramide synthase  
attenuates heat shock response in  
mammalian cells”

第 63 回日本細胞生物学会大会、北海道、  
2011/6/27-29

(10) 後藤真里、内山綾子、藤原優子、Junming  
YUE, Gabor TIGYI, 室伏きみ子

「オートタキシンノックダウンによるがん  
細胞の浸潤・転移抑制」

第 53 回日本脂質生化学会、東京、  
2011/5/12-13

(11) 野崎絵美、後藤真里、堀田晴美、花澤  
修和、鈴木孝洋、小林進、室伏きみ子

「2 カルバ環状ホスファチジン酸光学異性体  
の合成とその生理作用の検討」

第 53 回日本脂質生化学会、東京、  
2011/5/12-13

(12) 上田裕子、秋山央子、後藤真里、渡辺  
俊、平林義雄、小林進、室伏擴、室伏きみ子  
「動物細胞の熱ストレス応答におけるグル  
コシルセラミド合成酵素の重要性」

第 53 回日本脂質生化学会、東京、  
2011/5/12-13

(13) Mari GOTOH, Katsura MAEDA-SANO,  
Harumi HOTTA, Hiromu MUROFUSHI, Kimiko  
MURAKAMI-MUROFUSHI

“Cyclic phosphatidic acid protects  
hypoxia induced apoptosis in  
neuroblastoma”

Lysophospholipid mediators in health and  
disease, Il Ciocco, Barga, Lucca (Italy),  
Aug. 14-19, 2011

(14) Yuko FUJIWARA, Sue Chin LEE,  
Jianxiong LIU, Mari GOTOH, Ayako UCHIYAMA,  
Junming YUE, Renuka GUPTA, Stephen KENNEL,  
Jonathan WALL, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI,  
Duane D. MILLER, Gabor TIGYI

“The role of autotaxin and stroma LPA  
receptors in cancer invasion and  
metastasis”

Lysophospholipid mediators in health and  
disease, Il Ciocco, Barga, Lucca (Italy),  
Aug. 14-19, 2011

(15) Mari GOTOH, Ayako UCHIYAMA, Yuko  
FUJIWARA, Junming Yue, Gabor TIGYI, Kimiko  
MURAKAMI - MUROFUSHI

“Effects of ATX knock-down on tumor cell

invasion and metastasis”

第 62 回日本細胞生物学会大会、大阪、  
2010/5/19-21

(16) Emi NOZAKI, Shuwa HANAZAWA, Mari GOTOH, Takahiro SUZUKI, Susumu KOBAYASHI, Kimiko MURAKAMI-MUROFUSHI

“Synthesis of enantiopure 2-carba-cyclic phosphatidic acid and effects of its chirality on biological functions”

第 62 回日本細胞生物学会大会、大阪、  
2010/5/19-21

(17) Ryo TANAKA, Masaru KATO, Mari GOTOH, Emi NOZAKI, Shuwa HANAZAWA, Atsuo NAKAZAKI, Takahiro SUZUKI, Kimiko MUROFUSHI, Susumu KOBAYASHI

“Synthesis and Biological Activity of thia-cPA”

The 59th Symposium on Kanto branch of the Society of Synthetic Organic Chemistry, Tokyo, 2010/5/22

(18) Ryo TANAKA, Masaru KATO, Mari GOTOH, Emi NOZAKI, Shuwa HANAZAWA, Atsuo NAKAZAKI, Takahiro SUZUKI, Kimiko MUROFUSHI, Susumu KOBAYASHI

“Synthesis and Biological Activity of thia-cPA”

The 130th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Okayama, 2010/3/28

[図書] (計 1 件)

(1) 著書・分担執筆

Laurent DÉSAUBRY, Nigel RIBEIRO, Mari GOTOH, Yoichi NAKATANI

“Biomimetic synthesis and properties of polyprenoids” In Lilyana D. PRAMATAROVA (eds.), *Biomimetic*. InTech, 195-212, 2011 (ISBN 978-953-307-271-5)

[その他]

受賞歴:平成 24 年度 第 12 回人間情報学会、一般部門・最優秀ポスター賞受賞

6. 研究組織

(1) 研究代表者

後藤 真里 (GOTOH MARI)

お茶の水女子大学・サイエンス&エデュケーションセンター・研究協力員

研究者番号: 80467050

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし