

平成21年5月18日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590918  
 研究課題名（和文）スフィンゴシン-1-リン酸受容体を標的とした急性肺傷害に対する治療戦略  
 研究課題名（英文）Modulation of S1PRs for the treatment of acute respiratory distress syndrome  
 研究代表者  
 権 寧博（GON YASUHIRO）  
 日本大学・医学部・准教授  
 研究者番号：80339316

## 研究成果の概要：

上皮は物質の通過を制限するバリアである。これまで我々は、S1P の受容体が肺の上皮細胞の間の物質の通過性を調節していることを明らかにしているが、本研究では、S1P 以外には、どの物質が上皮の物質の通過性を調節しているのか調べた。その結果、EGF という成長因子がバリア機能に重要である事が明らかになった。さらに、S1P 受容体や EGF 受容体は、Rac1 や cdc42 などの共通の分子を介して、上皮の物質の通過性を調節していることがわかった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：呼吸器内科学

科研費の分科・細目：内科臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：上皮透過性

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 血管内皮透過性制御のメカニズムはよ

く解析されているが、上皮透過性のメカニズムについてはあまり知られていない。上皮の透過性を制御しているのが上皮のタ

イトジャンクションであるが、その形成がそのような因子によって制御されているのかほとんどわかっていない。

(2) 急性肺障害は、死亡率が高く、現在も治療法が未だ確立されていない病態である。急性肺障害の基本病態である肺水腫は発症のメカニズムが十分解明されておらず、治療法の確立のためには、そのメカニズムを明らかにすることが必要である。

## 2. 研究の目的

(1) 上皮透過性に影響を及ぼす内因性物質を同定したり、細胞内情報伝達経路を解析するために、気管支、肺由来の上皮細胞株を用いて、上皮透過性の培養実験モデルを構築する

(2) 上皮透過性に関係するS1Pの受容体を標的とするために、S1P受容体による上皮透過性制御のメカニズムを探る

(3) S1P刺激を用いて、上皮透過性に影響を与える細胞内シグナルを同定する。

(4) 上皮透過性に影響を及ぼす、S1P以外の内因性物質を同定し、その細胞内情報伝達経路を明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) 気管支上皮細胞株 Calu-3 細胞、16HBEco-細胞、1-HAE 細胞を用いて、Trans Epithelial Electric Resistance (TER)、tight junction に対する免疫染色法で評価する。Tight junction は、ZO-1, Occludin の染色によって評価する。

(2) 上皮透過性に影響を及ぼす内因性物質、細胞内シグナルを上記の方法でスクリーニングする

(3) 上皮透過性を制御している細胞内情報伝達分子を同定する

(4) S1Pアゴニストの効果と、上皮透過性を制御する内因性シグナルに対する影響を明らかにする。

(5) 動物モデルを用いて、S1P受容体アゴニストの抑制を確認する

## 4. 研究成果

(1) 気管支上皮細胞株 Calu-3 細胞、16HBEco-細胞、1-HAE 細胞を用いて、安定的に上皮透過性を評価できる実験系を確立した。

(2) 気道上皮細胞の tight junction の安定性には、EGFR シグナルによる上皮細胞の活性化シグナルが重要であることが明らかになった。また、EGFR と ErbB 受容体ファミリーの相互作用が、EGF のリガンドによる上皮透過性の制御に重要であることが明らかになった。これらの受容体の組み合わせは、上皮バリア形成に対して促進的作用する場合もあるが、その反対に抑制的に作用する場合もあることが明らかになった。

(3) S1P、EGF など複数の因子が、気道上皮の透過性制御に関係していることが明らかになった。

(4) S1PR においては、Rac1 がタイトジャンクション形成に促進的に、RhoA が抑制的に作用している可能性が考えられた。

(5) EGFR や ErbB 受容体ファミリーによる上皮透過性制御機構においても、RhoA が抑制的に、Rac1, cdc42 が促進的に作用していることが明らかになった。

(6) S1PR と EGFR は、上皮透過性制御に共通する細胞内シグナルを介し関係し

ている可能性が考えられた。

(5) S1PR と EGFR のアゴニストは、上皮透過性を制御する薬剤として応用できる可能性が考えられた。

#### 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 5 件)

1. Endo D, Gon Y, Nunomura S, Kyoko N, Hashimoto S, Ra C. PI3K $\gamma$  Differentially Regulates Fc $\epsilon$ RI-Mediated Degranulation and Migration of Mast Cells by and toward Antigen. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2009. 149 Supple 1 (in press)
2. Hayashi S, Jibiki I, Asai Y, Gon Y, Kobayashi T, Ichiwata T, Shimizu K, Hashimoto S. Analysis of gene expression in human bronchial epithelial cells upon influenza virus infection and regulation by p38 mitogen-activated protein kinase and c-Jun-N-terminal kinase. *Respirology.* 2008 Mar;13(2):203-14.
3. Miyata N, Gon Y, Nunomura S, Endo D, Yamashita K, Matsumoto K, Hashimoto S, Ra C. Inhibitory effects of parthenolide on antigen-induced microtubule formation and degranulation in mast cells. *Int Immunopharmacol.* 2008 Jun;8(6):874-80
4. Onose A, Hashimoto S, Hayashi S, Maruoka S, Kumasawa F, Mizumura K, Jibiki I, Matsumoto K, Gon Y, Kobayashi T, Takahashi N, Shibata Y, Abiko Y, Shibata T, Shimizu K, Horie T. An inhibitory effect of A20 on NF-kappaB activation in airway epithelium upon influenza virus infection. *Eur J Pharmacol.* 2006 Jul 17;541(3):198-204. Epub 2006 May 20.

5. Kumasawa F, Hashimoto S, Onose A, Jibiki I, Mizumura K, Matsumoto M, Maruoka S, Gon Y, Kobayashi T, Takahashi N, Ichijo H, Horie T: Apoptosis signal-regulating kinase 1 in leukotriene D4-induced activator protein-1 in airway smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol.* 2005 Jul 4;517(1-2):11-6..

[学会発表] (計 14 件)

1. 寺門正裕、権 寧博、関山晶子、遠藤大介、山下京子、高橋典明、橋本 修、EGF受容体による気道上皮バリア機構の制御についての解析 48回日本呼吸器学会学術講演会、2008年11月 東京
2. 関山晶子、権 寧博、寺門正裕、遠藤大介、山下京子、竹下郁子、小林朋子、羅智靖、橋本 修、吸入ステロイドの気道上皮透過性バリア機能に及ぼす影響 第48回日本呼吸器学会学術講演会、2008年11月 東京
3. 関山晶子、権 寧博、寺門正裕、遠藤大介、山下京子、竹下郁子、小林朋子、羅智靖、橋本 修、吸入ステロイドの気道上皮透過性バリア機能に及ぼす影響 58回日本アレルギー学会秋季学術大会、2008年11月 東京
4. 遠藤大介、権 寧博1、山下京子、布村聡、宮田直子、橋本 修、羅智靖、マスト細胞の脱顆粒と細胞遊走におけるPI3KとSphKの役割の違いについて、2007.11月、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、東京
5. 遠藤大介、権寧博、山下京子、布村聡、宮田直子、橋本修、羅智靖、抗原に対するマスト細胞遊走のメカニズム、第11回呼吸病態研究会、東京、2007.12
6. 遠藤 大介、権 寧博、山下 京子、布村 聡、宮田 直子、 橋本 修、羅智靖、マスト細胞の脱顆粒と細胞遊走におけるPI3KとSphKの役割の違いについて、第57回日本アレルギー学会秋季学術大会、2007,11 東京
7. YAMASHITA K, GON Y, ENDO D, NUNOMURA S, MIYATA N, HASHIMOTO S, RA C, The roles of Fyn on  $\beta$ -chain ITAM-independent mast cell activation、第37回日本免疫学会総

会、2007.11. 東京

8. Endo D, Gon Y, Nunomura S, Yamashita K, Miyata N, Hashimoto S, Ra C, The different roles of PI3K and Sphk in mast cell degranulation and migration、第37回日本免疫学会総会、2007.11. 東京

9. 遠藤 大介、権 寧博、山下 京子、福永牧子、宮田 直子、小野瀬 輝、熊澤 文2、松本 健、布村 聡、橋本 修、羅 智靖、抗原によるマスト細胞遊走におけるIgE受容体β鎖非依存的な情報伝達経路の関与、第47回日本呼吸器学会総会 2007.6. 東京、

10. 山下 京子、権 寧博、遠藤 大介、福永牧子、宮田 直子、小野瀬 輝、熊澤 文雄、橋本 修、羅 智靖、マスト細胞のIL-13産生のスフィンゴシンキナーゼによる制御、第47回日本呼吸器学会総会 2007.6. 東京

11. 権 寧博、羅 智靖 スフィンゴシンキナーゼと炎症 日本大学 文部科学省・私立大学学術研究高度化推進事業 ハイテクリサーチセンター整備事業 公開シンポジウム 「ヒトの疾病に対する分子医療の確立」 2007. 2 東京

12. Gon Y, Regulation of lung barrier function by sphingosine-1-phosphate 9<sup>th</sup> pneumo colloquium 2006.6. 30. 東京

13. 権 寧博、橋本 修<sup>2</sup>スフィンゴシン1-リン酸 (S1P) とTNFの相互作用は肺傷害を増強する 第46回 日本呼吸器学会学術講演会 2006.6.1 東京

14. 権 寧博、橋本 修 肺内スフィンゴシン1-リン酸 (S1P) の増加は肺水腫を引き起こす 第46回 日本呼吸器学会学術講演会 2006.6.1 東京

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

権 寧博 (GON YASUHIRO)  
日本大学・医学部・准教授  
研究者番号：80339316

### (2) 研究分担者

羅 智靖 (RA CHISEI)  
日本大学・医学部・教授  
研究者番号：60230851  
林 伸一 (HAYASHI SHINICHI)  
日本大学・医学部・助手  
研究者番号：20445745

### (3) 連携研究者

なし