

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07118

研究課題名(和文) 2アドレナリン受容体-IL-6シグナル増強による炎症制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) Investigation of the anti-inflammatory mechanism of beta2 adrenergic receptor-IL-6 axis activation

研究代表者

鈴木 絵里子 (Eriko, Suzuki)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00468513

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)：本研究において、我々は、種々の炎症性疾患動物モデルにおいて、著効を示す生理活性物質SMTPの抗炎症の標的分子がsoluble epoxide hydrolase(sEH)であることを端緒に、SMTPによるsEH阻害により発現する抗炎症作用が、炎症を正負に制御するサイトカインであるIL-6の緩徐な上昇を介してもたらされることを見出した。また、その機序として、主に筋肉・脂肪組織におけるbeta2アドレナリン受容体活性化が関与し、sEHのN-phos阻害によるb2AR-IL-6シグナルの増強が炎症制御の要となることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

炎症が関与する疾患は多種多様であり、それゆえ炎症の制御は疾病の治療・予防や人々のQOLの向上に寄与する重要な命題である。本研究において報告した、アドレナリン受容体を介したIL-6発現の緩徐な上昇を介した炎症制御メカニズム、また可溶性エポキシドヒドロラーゼN末端ホスファターゼ阻害によるこのシグナルの増強は、炎症制御の新しい作用点を提唱するものであり、新規治療薬開発や炎症性疾患の発症・増悪化の機序の解明に貢献しうる、新しい発見である。

研究成果の概要(英文)：We have previously found that SMTP, a bioactive compound which shows excellent anti-inflammatory effect in various animal models via the inhibition of soluble epoxide hydrolase (sEH). In this study, we have demonstrated that the anti-inflammatory effect was due to a gradual increase of plasma IL-6, a pleiotropic cytokine responsible for the regulation of inflammation. We also found that beta2 adrenergic receptor activation mainly in muscle and adipose tissue is involved as a responsible mechanism, and that enhancement of b2AR-IL-6 signal by N-phos inhibition is essential for the regulation of inflammation.

研究分野：細胞生物学

キーワード：抗炎症作用 アドレナリン受容体 IL-6 脂肪組織

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

真菌 *Stachybotrys microspora* 由来の生理活性物質 SMTP は、線溶促進活性と抗炎症活性とを併せ持ち、当研究室にて保有する N 側鎖構造の異なる約 60 種類の同族体の内の一つは、現在脳梗塞を対象に臨床第二相試験が進行中である。近年我々は、SMTP の優れた抗炎症活性の主要メカニズムとして、炎症関連酵素 soluble epoxide hydrolase (sEH) 阻害を明らかにした。sEH は、C 末端に脂質エポキシドヒドロラーゼ活性 (C-EH)、N 末端に脂質リン酸ホスファターゼ活性 (NPhos) を有する二機能酵素であり、両者は互いにアロステリックに影響し合う。C-EH の生体内基質である epoxyeicosatrienoic acid (EET) は、sEH により不活性な diol である DHET へと代謝を受けるため、EH 活性の阻害は EET の持つ有益な生理作用の発現に繋がる。一方で、N 末端の P 活性の生体内の基質は、リゾホスファチジン酸およびファルネシルモノリン酸を含むコレステロール生合成経路の中間体である。P 活性は脂質代謝やコレステロールの生合成に寄与することが示唆されている。NASH の病態においては、しばしば局所の炎症を伴うが、このような脂肪肝に付随した炎症状態では、unfold タンパク質による細胞内ストレス、続く小胞体 (ER) ストレスが炎症の悪化や肝臓の脂肪変性に密接に関与することが明らかになってきた。また、高脂肪食誘発肥満モデルマウスの肝臓および脂肪組織においては、sEH 発現の上方向調節が認められている。しかしながら、SMTP による脂肪肝の抑制に、sEH の EH 活性阻害を介した抗炎症作用や P 活性阻害を介した脂質代謝制御が関与しているのか、また ER ストレスの寄与については未解明であった。

2. 研究の目的

本邦における肥満や高脂血症、脂肪肝といった所謂メタボリックシンドロームは人々の健康的な生活を脅かす深刻な問題である。非アルコール性脂肪肝 (NASH) の病態では、肝臓の脂肪変性に伴う局所炎症の際、組織での ER ストレス応答や炎症関連酵素である可溶性エポキシドヒドロラーゼ (sEH) の関与が示唆されている。しかしこの詳細な機序は不明であった。我々が発見した微生物由来低分子化合物 SMTP-7 には sEH の阻害による抗炎症活性と、肥満マウスモデルでの脂肪肝改善効果が認められている。本研究課題においては、SMTP を用い、肝臓脂肪変性を含む脂質代謝異常における ER ストレス応答と sEH の寄与を明らかにし、病態改善に繋がる分子機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

野生型マウス (C57BL/6、♂) および sEH KO マウスに、SMTP-7 (10 mg/kg) および生理食塩水を週 3 回腹腔内投与し、体温・体重測定を行った。投与開始から 180 日後にマウスを解剖、肝臓・白色脂肪組織、褐色脂肪組織を採取した。肝臓より Folch 法により脂質を抽出し、トリグリセリド等、脂質代謝関連パラメーター解析に供した。採取した血液は、血中遊離脂肪酸、血中コレステロール、トリグリセリド、グルコースの定量に用いた。肝臓より RNA を抽出し、遺伝子発現変動解析のため、DNA microarray (Agilent technology に委託) を行った。

4. 研究成果

生理活性物質 SMTP の薬理作用メカニズムに関する研究を行う中で、マイクロアレイによる解析から、SMTP 長期投与によって、炎症抵抗性の表現型を示す sEH KO に極めて類似した遺伝子発現パターンの変化 (=IL-6 制御下にある遺伝子発現を上昇させる) ことを発見した。これを契機に、sEH の阻害と欠損とが、脂肪組織において、アドレナリン受容体を介した IL-6 発現誘導・組織保護 (抗炎症) 遺伝子の発現という一連の制御メカニズムを介して炎症を制御することを発見した。さらに、SMTP や、N-phos 選択的阻害剤が血管内皮活性化を抑制することを見出した。一方で、sEH の N-phos、C-EH のいずれの活性が炎症制御に貢献するのか、という問いに対しては、群馬大学の協力を得て、ゲノム編集による点変異マウスの作製により、*in vivo* での表現型解析が可能となった。N-phos 基質探索については、LC-MS/MS を用いた分析から、複数の長鎖多価不飽和ホスファチジン酸を基質候補分子として同定しており、培養細胞系での活性評価が可能である。これらの背景・経緯から、本研究の研究構想に至った。N-phos が担う役割および C-EH・N-phos 間のクロストークは未解明であり、本研究の成果として、炎症制御の新たな作用点が提示できるだけでなく、新しい炎症制御薬開発への展開が期待できる。

SMTP cause gene expression change similar to sEH deletion

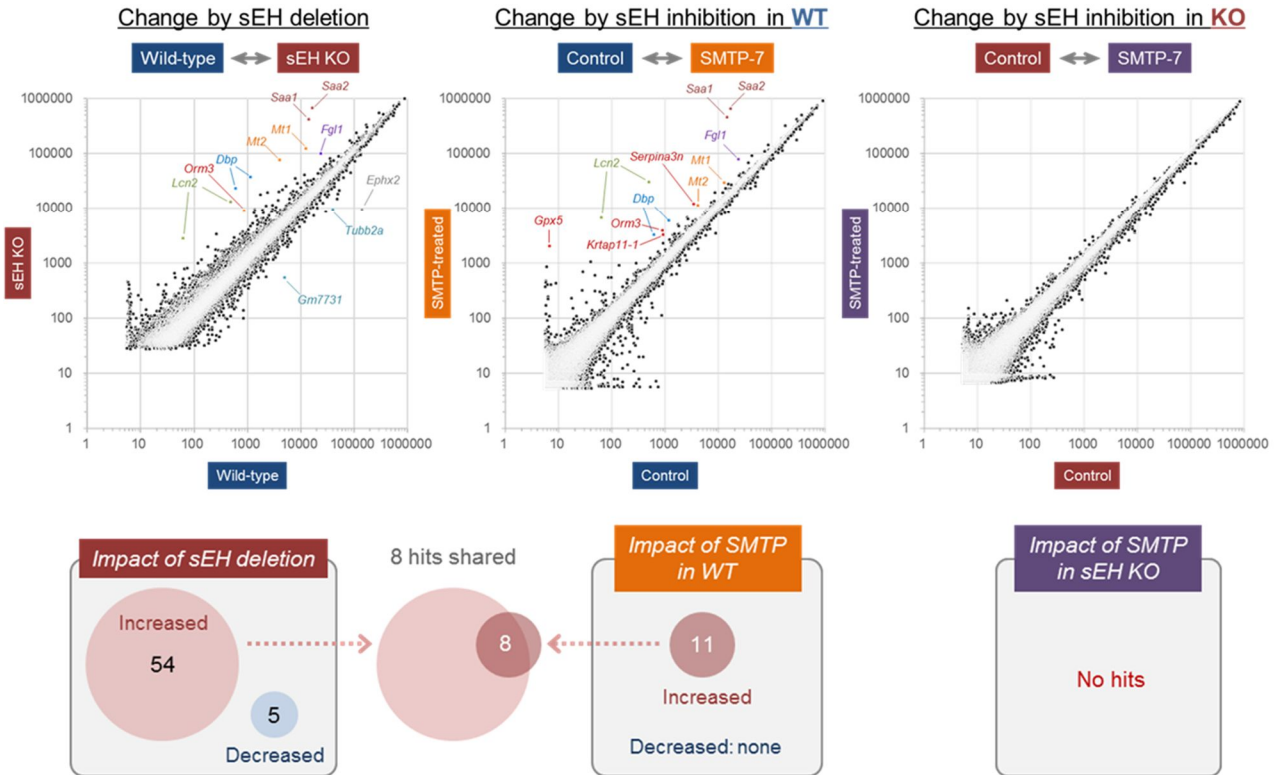


図 1. SMTP 投与および sEH KO マウスにおける野生型との遺伝子発現変動パターンの類似

発表論文

1. Hasumi K and Suzuki E. Impact of SMTP targeting plasminogen and soluble epoxide hydrolase on thrombolysis, inflammation, and ischemic stroke. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; **22**: 954-976.
2. Matsumoto N, Kataoka M, Hirosaki H, Morisseau C, Hammock B, Suzuki E, Hasumi K. N-substituted amino acid inhibitors of the phosphatase domain of the soluble epoxide hydrolase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019; **515**: 248-253.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuki E, Otake S, Hamadate N, Hasumi K	4. 巻 72
2. 論文標題 Kurozu melanoidin, a novel oligoglucan-melanoidin complex from Japanese black vinegar, suppresses adipogenesis in vitro.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Funct Foods	6. 最初と最後の頁 104046-104053
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2020.104046	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 Takagaki S, Suzuki M, Suzuki E, Hasumi K.	4. 巻 44
2. 論文標題 Unsaturated fatty acids enhance the fibrinolytic activity of subtilisin NAT (nattokinase), a protease derived from a bacillus fermentation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Food Biochem	6. 最初と最後の頁 e13326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jfbc.13326	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 Matsumoto N, Kataoka M, Hirosaki H, Morisseau C, Hammock B, Suzuki E, Hasumi K.	4. 巻 515
2. 論文標題 N-Substituted amino acid inhibitors of the phosphatase domain of the soluble epoxide hydrolase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 248-253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.05.088	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
1. 著者名 Hasumi K, Suzuki E.	4. 巻 22
2. 論文標題 Impact of SMTP targeting plasminogen and soluble epoxide hydrolase on thrombolysis, inflammation, and ischemic stroke.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int. J. Mol. Sci.	6. 最初と最後の頁 954-976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2019.05.088	査読の有無 無
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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 鈴木絵里子、田島真梨絵、中野真衣、廣寄響、木下春奈、蓮見恵司
2. 発表標題 生理活性物質SMTPによる血管炎症制御：beta2アドレナリン受容体 IL-6シグナル経路の関与
3. 学会等名 日本血栓止血学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki E, Tajima M, Nakano M, Hirosaki H, Kinoshita H, Hasumi K.
2. 発表標題 Regulation of vascular inflammation and liver defense system by a lipid substrate of N-terminal phosphatase of soluble epoxide hydrolase
3. 学会等名 国際血栓止血学会（国際学会）
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	蓮見 恵司 (Hasumi Keiji) (20208474)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授 (12605)	

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