

令和 4 年 9 月 26 日現在

機関番号：25503

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16354

研究課題名(和文)プロスタグランジンの初期発生、再生作用解明のためのゼブラフィッシュモデルの作製

研究課題名(英文)Generation of a zebrafish model for elucidating effects on the early development and regeneration of prostaglandin

研究代表者

告 恭史郎(Tsuge, Kyoshiro)

山陽小野田市立山口東京理科大学・薬学部・助教

研究者番号：40825121

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、プロスタグランジン(PG)受容体欠損ゼブラフィッシュ系統の網羅的解析を行い、PGE2-EP3受容体経路が静脈内皮細胞におけるリンパ管分化因子の発現誘導を介してリンパ管分化を促進していることを明らかにした。また、腎発生、性腺発生に重要な受容体経路も見出し、現在、詳細な解析を行なっている。さらに、PGと類縁の脂質メディエーターが器官再生に関与している可能性を見出し、現在、責任受容体の同定、生化学的性状解析を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、これまでほとんど明らかにされていなかったPGの初期発生作用の分子機構を解明したものであり、学術的意義が大きい。本研究は、NSAIDsの適正使用や脂質メディエーターを用いた再生医療の基盤となるものであり、社会的意義も大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed comprehensive analyses of prostaglandin (PG) receptor-deficient zebrafish lines and revealed that the PGE2-EP3 receptor pathway promotes lymphatic vessel differentiation through the induction of lymphatic vessel differentiation factor expression in venous endothelial cells. And then, we have also found important receptor pathways for kidney development and gonad development, and are currently researching detailed mechanisms. Furthermore, we have discovered that lipid mediators related to PG may be involved in organ regeneration, and are currently in the process of identifying responsible receptors and analyzing biochemical properties.

研究分野：生化学、分子生物学、発生生物学、薬学、再生医療学

キーワード：ゼブラフィッシュ 脂質 プロスタグランジン 再生医療 GPCR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

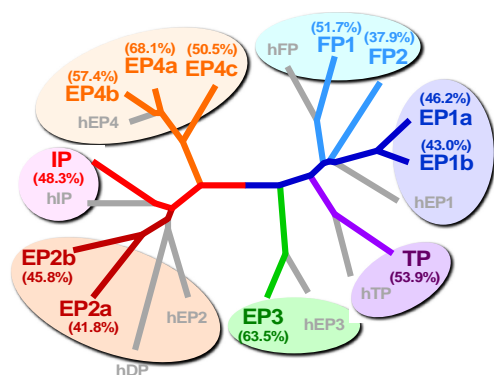
プロスタグランジン (prostaglandin : PG) は、生体膜リン脂質から切り出されたアラキドン酸にシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase : COX) が作用して産生される脂質メディエーターの総称であり、G タンパク質共役型受容体を介して、多彩な病態・生理作用を発揮する。PG の合成阻害剤である非ステロイド性抗炎症薬 (Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs : NSAIDs) は、解熱・鎮痛薬として世界中で汎用されている一方、胎児の初期発生に対して様々な毒性を発揮する事が報告されている。この事から、PG は胚の初期発生に重要な役割を持つ可能性が示唆されるが、その詳細はほとんど不明である。

2. 研究の目的

PG の初期発生、器官再生における PG の作用を受容体分子レベルで評価し、NSAIDs の適正使用と、PG の再生作用機構を基盤とした組織創傷に対する新規治療法への応用を目的とする。

3. 研究の方法

PG の初期発生作用を解明すべく初期発生の研究の有用なツールであるゼブラフィッシュをモデル生物として、研究を行った。これまでに申請者らは、cAMP 産生系、及び Ca^{2+} 動員系のゼブラフィッシュ PG 受容体をそれぞれ 6 種類 (合計 12 種類) 同定しており、その生化学的性状、及び発現プロファイルを解析してきた (図 1)。本研究では、これら PG 受容体の欠損系統をゲノム編集によって作製し、胚発生過程を詳細に解析した。



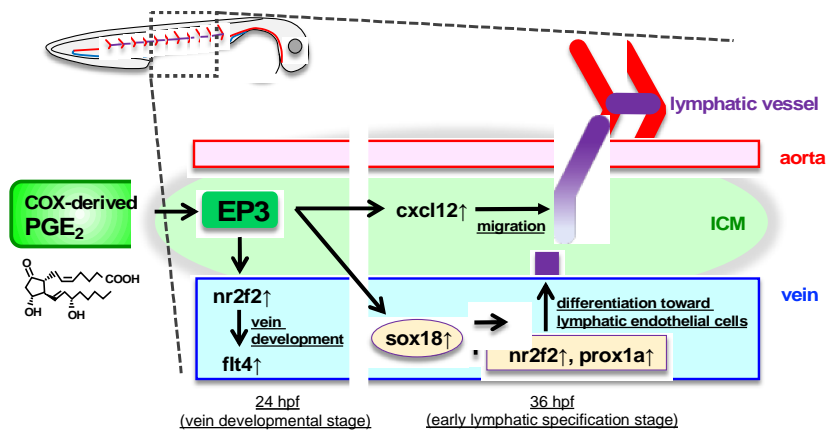
Biochem. Biophys. Res. Commun. 436, 685-690 (2013)
Biochem. Biophys. Res. Commun. 438, 353-358 (2013)

図 1 ゼブラフィッシュ PG 受容体の分子進化系統樹

%はヒト (h) 受容体に対する相同性を示す。

4. 研究成果

ゼブラフィッシュの全 PG 受容体において、欠損系統を作製した結果、複数の系統において、様々な発生異常の表現型が見出された。以下、最も先行している EP3 受容体におけるリンパ管形成機構の解析について詳細な成果を記載する。EP3 受容体欠損ゼブラフィッシュ胚において、リンパ管形成異常が認められた。この結果は、EP3 受容体のモルフォリノノックダウン、代表的な NSAIDs であるインドメタシンの処理においても再現され、インドメタシンによるリンパ管形成異常は、EP1/3 受容体作動薬 (スルプロストン) の共処理によってレスキューされた。さらなる解析の結果、COX-1 によって産生された PGE_2 が動脈と静脈の中間領域に発現する EP3 受容体に作用して、静脈内皮細胞における sox18, nr2f2, prox1a などのリンパ管分化因子の発現を誘導し、リンパ管内皮細胞への分化転換を促進していることを明らかにした (Sci. Rep. 9, 7650 (2019)., 図 2)。



Sci. Rep. 9:7650 (2019)

図2 ゼブラフィッシュ EP3 受容体のリンパ管形成機構

また、X 受容体欠損ゼブラフィッシュ胚における腎発生異常、及び Y 受容体欠損ゼブラフィッシュにおける性腺発生異常を見出した。リガンドとなる PG の産生経路、および受容体シグナルが制御する遺伝子について解析を行った。現在、論文投稿準備中である。

さらには、薬理的解析から、PG と類縁の脂質メディエーターが器官再生に関与している可能性を見出した。現在、ヒト受容体と相同性の高い遺伝子を 4 種類単離して、安定発現細胞株の樹立、シグナル伝達経路の生化学的解析、*in situ* hybridization による発現解析を行っている。今後、責任受容体欠損ゼブラフィッシュの樹立、マウスモデルを用いた検証を行い、脂質メディエーターが司る器官再生機構を明らかにしていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tsuge K, Inazumi T, Shimamoto A, Sugimoto Y	4. 巻 31
2. 論文標題 Molecular mechanisms underlying prostaglandin E2-exacerbated inflammation and immune diseases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International immunology	6. 最初と最後の頁 597 - 606
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxz021	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 Iwasaki R, Tsuge K, Kishimoto K, Hayashi Y, Iwaana T, Hohjoh H, Inazumi T, Kawahara A, Tsuchiya S, Sugimoto Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Essential role of prostaglandin E2 and the EP3 receptor in lymphatic vessel development during zebrafish embryogenesis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 7650
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-44095-5	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 Toyoda Y et al.	4. 巻 15
2. 論文標題 Ligand binding to human prostaglandin E receptor EP4 at the lipid-bilayer interface.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature chemical biology	6. 最初と最後の頁 18 - 26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41589-018-0131-3	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18件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kumiko Sakai, Masaya Hirota, Chiaki Kato, Noritaka Inami, Natsuho Moriyama, Manaka Ohta, Akane Watanabe, Ryosuke Wakabayashi, Satoru Yamamoto, Kyoshiro Tsuge, Akira Shimamoto, Ko Momotani
2. 発表標題 Crucial Roles of p63RhoGEF in Mouse and Zebrafish Smooth Muscle Contraction and Vasoconstriction
3. 学会等名 BPS 2022 - 66th Biophysical Society Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kyoshiro Tsuge, Ryosuke Wakabayashi, Satoru Yamamoto, Akira Shimamoto
2. 発表標題 Newly Functions of Arachidonate Metabolites Discovered by Using Zebrafish Model
3. 学会等名 BPS 2022 - 66th Biophysical Society Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 告 恭史郎
2. 発表標題 治療効果の高いヒトMSC製剤を目指した抗老化3D培養法と非侵襲的老化状態評価法の確立
3. 学会等名 日本基礎老化学会 第42回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小代綾香, 百富文月, 渡邊尚幸, 告恭史郎, 稲住知明, 川原敦雄, 土屋創健, 杉本幸彦
2. 発表標題 腎臓初期発生におけるプロスタグランジンE2受容体EP4の役割
3. 学会等名 第38回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊尚幸, 岸本幸一郎, 告恭史郎, 岩穴拓也, 小代綾香, 稲住知明, 川原敦雄, 土屋創健, 杉本幸彦
2. 発表標題 臓初期発生におけるプロスタグランジンI2受容体IPの役割
3. 学会等名 第20回次世代を担う若手のためのファーマ・バイオフィォーラム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊尚幸, 岩穴拓也, 告恭史郎, 岸本幸一郎, 小代綾香, 稲住知明, 川原敦雄, 土屋創健, 杉本幸彦
2. 発表標題 プロスタグランジンI2受容体の腎臓初期発生における役割
3. 学会等名 令和3年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土屋創健, 岩崎亮, 告恭史郎, 岸本幸一郎, 林侑汰, 岩穴拓也, 稲住知明, 川原敦雄, 杉本幸彦
2. 発表標題 リンパ管の初期発生におけるプロスタグランジンの寄与
3. 学会等名 令和3年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森結貴, 山崎恵理奈, 沼田さおり, 告恭史郎, 杉本聡子, 稲住知明, 土屋創健, 杉本幸彦
2. 発表標題 Gタンパク質/ β -arrestinシグナルに対するバイアス型プロスタグランジン受容体作動薬の探索
3. 学会等名 第73回日本薬理学会西南部会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊尚幸, 岩穴拓也, 告恭史郎, 岸本幸一郎, 稲住知明, 川原敦雄, 土屋創健, 杉本幸彦
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ腎臓形成におけるプロスタグランジンI2受容体IPの関与
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡邊尚幸、岩穴拓也、告恭史郎、岸本幸一朗、稲住知明、川原敦雄、土屋創健、杉本幸彦
2. 発表標題 腎臓初期発生におけるプロスタグランジンI2受容体の役割
3. 学会等名 令和2年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土屋創健、岩崎亮、告恭史郎、岸本幸一朗、林侑汰、岩穴拓也、稲住知明、川原敦雄、杉本幸彦
2. 発表標題 リンパ管初期発生におけるプロスタグランジンの役割
3. 学会等名 令和2年度日本生化学会九州支部例会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野海 颯, 山本眞也, 告 恭史郎, 嶋本 顕
2. 発表標題 ゼブラフィッシュの飼育・監視システムの提案
3. 学会等名 第27回 マルチメディア通信と分散処理ワークショップ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 告 恭史郎、矢野 公義、濱田 充子、岡本 哲治、田原 栄俊、嶋本 顕
2. 発表標題 薬剤誘導性リプログラミングシステムを用いたがん幹細胞のin vitro休眠・増殖モデルの確立
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 告 恭史郎、矢野 公義、濱田 充子、岡本 哲治、田原 栄俊、嶋本 顕
2. 発表標題 がん幹細胞のin vitro休眠・増殖評価系の確立を目指したドキシサイクリン誘導性がん幹細胞株の樹立と性状解析
3. 学会等名 日本組織培養学会 第92回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩穴 拓也、告 恭史郎、岸本 幸一朗、岩崎 亮、稲住 知明、川原 敦雄、土屋 創健、杉本 幸彦
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ腎臓形成におけるプロスタグランジンの役割
3. 学会等名 第61回日本脂質生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 告 恭史郎、矢野 公義、田原 栄俊、嶋本 顕
2. 発表標題 ドキシサイクリン誘導性リプログラミングシステムを用いたがん幹細胞のin vitro休眠・増殖モデルの開発
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 告 恭史郎、矢野 公義、田原 栄俊、嶋本 顕
2. 発表標題 ドキシサイクリン誘導性リプログラミングシステムを用いたがん幹細胞のin vitro休眠・増殖モデルの開発
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 告 恭史郎、矢野 公義、田原 栄俊、嶋本 顕
2. 発表標題 ドキシサイクリン誘導性リプログラミングシステムを用いたがん幹細胞のin vitro休眠・増殖モデルの開発
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会学術集会
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

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