

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 25 年 4 月 21 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 九州大学大学院薬学研究院
 職名 教授
 研究代表者 黒瀬 等
 勤務先所在地 〒812-8582
 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1
 電話番号 092-642-6884
 ファックス番号 092-642-6884
 E-メール kurose@phar.kyushu-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号 11025)

1. 研究プロジェクト名と共同研究課題名	プロジェクト名:(2)「代謝シグナル機能研究プロジェクト」 共同研究課題名:心筋の線維化のホルモン性制御とプロトン感知性受容体			
2. 共同研究目的	心臓の線維化は心機能不全を引き起こす要因の一つであり、様々なホルモンが関わっている。線維化はコラーゲンが過剰に蓄積した状態で、組織の機能低下を引き起こす。この線維化は、心臓では圧負荷や虚血などのストレスに曝されると誘導される。虚血時には細胞外 pH の低下が予想される。本研究では pH の低下を感知するプロトン感知性受容体が、心臓がストレスにさらされた時に生じる応答にどのように関わっているのかを明らかにするため、単離した細胞および遺伝子欠損マウスを用いて解析する。			
3. 共同研究期間	平成 24 年 4 月 1 日 ~ 平成 25 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 黒瀬 等	57	九州大学大学院薬学研究院	教授	プロトン感知性受容体の in vivo での役割解析
(分担研究者) 仲矢 道雄	35	九州大学大学院薬学研究院	准教授	プロトン感知性受容体の in vitro での役割解析
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	シグナル伝達	氏名	岡島史和

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

心臓は、ストレス(圧負荷や虚血など)に曝されると、機能の低下を肥大によって代償しようとする。心肥大に伴って生じる応答の一つに線維化がある。線維化は細胞外マトリクスのコラーゲンが過剰に蓄積した状態をいい、一般的に組織の機能が低下する。心臓では、コラーゲンの蓄積は欠落した細胞の間隙を補うように働き組織の形態を維持するように働くものの、柔軟性を低下させるため心臓の収縮・弛緩サイクルが影響を受ける。心臓での線維化は、心機能(とくに拡張能)の低下と密接に関連しているとされている応答である。線維化には、さまざまな神経体液性因子が関与していることが知られている。ストレスに曝された応答は神経体液性因子によると考えられている。しかしながら、ストレスに曝された心臓では細胞外 pH の低下が生じることも報告されている。しかし、これまでストレスに曝された心臓で観察される細胞外 pH の低下が、どのような役割を果たしているのか解析されてこなかった。細胞外 pH の低下で活性化されるシグナリング分子としてイオンチャネルが有名である。イオンチャネルの他にも、細胞外 pH の低下によって活性化される4種のプロトン感知性 G タンパク質共役型受容体(プロトン感知性受容体 GPR4、OGR1、TDAG8、G2A)も存在している。本研究では、ストレス時に観察される細胞外 pH の低下によって引き起こされる応答のうち GPR4 を介して生じるものを、ノックアウトマウスおよび単離心筋細胞を用いた in vivo および in vitro の解析により明らかにすることを目的とした。

7. 共同研究の成果

上記の目的を遂行するため、以下の実験を行った。

1. 心臓でもっとも発現の高い GPR4 の KO マウスに心筋梗塞処置を行い、生存率、心臓の線維化、マクロファージや好中球の浸潤、ならびに心機能の測定などを行い、野生型と比較した。その結果、生存率と機能で野生型との間に差がみられた。
2. 野生型および GPR4-KO マウスより単離した心筋細胞に低 pH 刺激を行い、細胞内シグナリングの解析を行ったところ、MAP キナーゼの活性化や NF- κ B の活性化などが生じた。これら応答が GPR4 を介しているか検討中である。
3. 線維芽細胞はストレスにさらされると筋線維芽細胞に分化し、コラーゲンを産生させる。分化していない状態の線維芽細胞を単離培養を行うと、培養することが刺激になり容易に筋線維芽細胞に転換する。そこで、筋線維芽細胞に分化しない状態で線維芽細胞を単離する条件を検討し、未分化のまま培養できる条件を確立した。現在、この条件で培養した線維芽細胞を低 pH 処理した後どのような応答が引き起こされるのか検討中である。
4. ストレス曝されると、マクロファージや好中球などの炎症細胞が心臓に浸潤し炎症応答が引き起こされる。これら炎症応答にどのように受容体が関与しているのか検討する。現在、マクロファージや好中球などの細胞を FACS により単離する条件を確立することができたことから、今後これら細胞への pH 処理の効果を検討する予定である。

心臓が虚血ストレスに曝された時の細胞外 pH の低下が果たす役割についていくつかの点を明らかにした。しかしながら、生理的な役割の解明には至っていない。今後また、プロトン感知性受容体は、心臓以外にも多くの細胞に発現している。したがって、ストレス(心筋梗塞)時に低下した pH が心臓以外の細胞に発現しているプロトン感知性受容体を活性化し、ストレスに対して何らかの役割を果たしていることも十分考えられる。これら受容体を認識する抗体を作製し、どの細胞に発現しているのかを明らかにし、細胞を単離した後その細胞での役割を解析する必要があると考える。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

現在、この研究テーマに関しては投稿するための結果が全てそろっていない。2013年度中に足りないデータを取り、投稿する予定である。