

遺伝子改変マウスを用いた生理活性脂質S1P・Edg受容体システムの統合的研究

著者	多久和 陽
著者別表示	Takuwa Yoh
雑誌名	平成18(2006)年度 科学研究費補助金 基盤研究(B) 研究成果報告書
巻	2005-2006
ページ	11p.
発行年	2007-03
URL	http://doi.org/10.24517/00050719

遺伝子改変マウスを用いた
生理活性脂質 S1P・Edg 受容体システムの統合的研究

17390054

平成 17 年度 ～ 平成 18 年度科学研究費補助金
(基盤研究 (B)) 研究成果報告書

平成 19 年 3 月

研究代表者 多久和 陽
金沢大学 医学系研究科 教授

金沢大学附属図書館



0800-04262-X

〈はしがき〉

「本研究では、多機能生理活性脂質スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)とその受容体の生理機能及びさまざまな病態における役割について遺伝子改変マウスを用いて統合的に解析し、さらにヒト疾患モデルを作成して S1P の効果を検討することにより疾患治療応用への可能性を探った。」

研究組織

研究代表者: 多久和 陽 (金沢大学医学系研究科教授)
研究分担者: 杉本 直俊 (金沢大学医学系研究科医学系研究科助教授)
研究分担者: 吉岡 和晃 (金沢大学医学系研究科医学系研究科助手)
研究分担者: 多久和 典子 (石川県立看護大学看護学部教授)

交付決定学(配分額)

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 17 年度	8,300,000	0	8,300,000
平成 18 年度	6,300,000	0	6,300,000
	14,600,000	0	14,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

1. S. Nagasawa, N. Takuwa, N. Sugimoto, H. Mabuchi and Y. Takuwa. Inhibition of Rac activation as a mechanism for negativeregulation of actin cytoskeletal reorganization and cell motility by cyclic AMP. *Biochem J.* 385:737-744, 2005.
2. T. Senokuchi, T. Matsumura, M. Sakai, M. Yano, T. Taguchi, K. Sonoda, D. Kukidome, K. Imoto, T. Nishikawa, S. Kim-Mitsuyama, Y. Takuwa, E. Araki. Statins suppress oxidized low-density lipoprotein-induced macrophage proliferation by inactivation of small G protein -p38 MAPK pathway. *J. Biol. Chem.* Feb 25;280(8):6627-6633. 2005.
3. M. Philippova, D. Ivanov, R. Allenspach, Y. Takuwa, P. Erne and T. Resink. RhoA and Rac mediate endothelial cell polarication and detachment induced by T-cadherin. *FASEB J.* 19(6):588-890. 2005.

4. H. Ohkawara, T. Ishibashi, T. Sakamoto, K. Sugimoto, K. Nagata, K. Yokoyama, N. Sakamoto, M. Kamioka, I. Matsuoka, S. Fukuhara, N. Sugimoto, Y. Takuwa and Y. Maruyama. Thrombin-induced rapid geranylgeranylation of RhoA as an essential process for RhoA activation in endothelial cells. *J Biol Chem.*;18;280(11):10182-10188. 2005
5. H. Ohtsu, M. Mifune, G. D. Frank, S. Saito, T. Inagami, S. K. Mitsuyama, Y. Takuwa, T. Sasaki, J. D. Rothstein, H. Suzuki, H. Nakashima, E. A. Woolfolk, E. D. Motley and S. Eguchi Signal-Crosstalk between Rho/ROCK and JNK mediates Migration of Vascular Smooth Muscle Cells stimulated by Angiotensin II. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*; 25:1831-1836. 2005
6. T. Sakamoto, T. Ishibashi, N. Sakamoto, K. Sugimoto, K. Egashira H. Ohkawara, K. Nagata, K. Yokoyama, M. Kamioka, T. Ichiki, N. Sugimoto, M. Kurabayashi, K. Suzuki, Y. Takuwa, and Y. Maruyama Endogenous NO Blockade Enhances Tissue Factor Expression via Increased Ca²⁺ Influx through MCP-1 in Endothelial Cells by Monocyte Adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*;25(9):2005-2011. 2005
7. T Maruko, T Nakahara, K Sakamoto, M Saito, N Sugimoto, Y Takuwa and K Ishii Involvement of the β Y subunits of G proteins in the cAMP response induced by stimulation of the histamine H₁ receptor Naunyn-Schmiedeberg's *Arch Pharmacol*;372:153-159. 2005
8. Y. Takuwa, K. Yoshioka, N. Takuwa, Y. Wang, MA. Azam and N. Sugimoto Calcium-dependent regulation of Rho and myosin phosphatase in vascular smooth muscle. *Biomed. Res*; 16:13-21. 2005
9. Y. Wang, K. Yoshioka, MA. Azam, N. Takuwa, S. Sakurada, Y. Kayaba, N. sugimoto, I. Inoki, T. Kimura, T. Kuwai and Y. Takuwa Class II phosphoinositide 3-kinase alfa-isoform regulates Rho, myosin phosphatase and contraction in vascular smooth muscle. *Biochem J*; 394: 581-592. 2006
10. N. Sugimoto, N. Takuwa, K. Yoshioka and Y. Takuwa Rho-dependent, Rho kinase-independent inhibitory regulation of Rac and cell migration by LPA1 receptor in Gi-inactivated CHO sells. *Exp. Cell Res*; 312: 1899-1908. 2006
11. I. Inoki, N. Takuwa, N. Sugimoto, K. Yoshioka, S. Takata, S. Kaneko and Y. Takuwa Negative regulation of endothelial morphogenesis and angiogenesis by S1P2 receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 346:293-300 2006

12. A. Tanabe, Y. Kamisuki, H. Hidaka, M. Suzuki, M. Negishi and Y. Takuwa PKC phosphorylates MARCKS Ser159 not only directly but also through RhoA/ROCK. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*; 345:156-161. 2006
13. MA. Azam, K. Yoshioka, S. Ohkura, N. Takuwa, N. Sugimoto, K. Sato, and Y. Takuwa Ca²⁺-independent, inhibitory effects of cyclic AMP on Ca²⁺ regulation of phosphoinositide 3-kinase C2a, Rho and myosin phosphatase in vascular smooth muscle *J. Pharm.Exp.Ther*; 320(2): 907-916. 2006
14. R. Zheng, A. Iwase, R. Shen, OB. Goodman Jr, N. Sugimoto, Y. Takuwa, DJ. Lerner, DM. Nanus Neuropeptide-stimulated cell migration in prostate cancer cells is mediated by RhoA kinase signaling and inhibited by neutral endopeptidase. *Oncogene.*; 25(44):5942-5952. 2006
15. H. Hashimoto, Y. Azuma, M. Kawasaki, H. Fujihara, E. Onuma, H. Yamada-Okabe, Y. Takuwa, E. Ogata, and Y. Ueta Parathyroid Hormone-Related Protein Induces Cachectic Syndromes without Directly Modulating the Expression of Hypothalamic Feeding-Regulating Peptides. *Clin Cancer Res*; 13: 292-298. 2007
16. K. Yoshioka, N. Sugimoto, N. Takuwa, Y. Takuwa Essential role for class II phosphoinositide 3-kinase alpha-isoform in Ca²⁺-induced, Rho- and Rho kinase-dependent regulation of myosin phosphatase and contraction in isolated vascular smooth muscle cells. *Mol Pharmacol.*; 71(3):912-920. 2007
17. T. Nakamura, K. Yonesu, Y. Mizuno, C. Suzuki, Y. Sakata, Y. Takuwa, F. Nara, S. Satoh Synthesis and SAR studies of a novel class of S1P(1) receptor antagonists. *Bioorg Med Chem.*; 15:3548-3564 2007
18. 多久和 典子, 杉本 直俊, 多久和 陽 スフィンゴシン 1 リン酸受容体による癌浸潤・転移の制御とその分子構造 *実験医学* 23: (増刊) 218-223, 2005
19. 薄井 荘一郎, 多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸と血管平滑筋 *血管医学* 6 (4) : 55-61, 2005.
20. 多久和 陽, 吉岡 和晃, 多久和 典子, 杉本 直俊 カルシウムイオンによる血管収縮活性化機構の新展開 *実験医学* 24(18): 2812-2816, 2006
21. 多久和 陽 PI3-キナーゼクラス II α イソフォームを介したカルシウムイオンによる血管収縮活性化の新機構 *生体の科学* 57(6):570-574, 2006

22. 多久和 陽 PI3-キナーゼクラス II アイソフォーム PI3K-Cac α を介した血管収縮における “Ca²⁺-induced Ca²⁺-sensitization” 日薬理誌 (Folia Pharmacol. Jpn) ; 129:253-257. 2007

(2) 口頭発表

1. Ca²⁺ regulation of smooth muscle Rho and phosphatase. XXXV International Congress of Physiological Sciences & Experimental Biology 2005 2005年4月
2. Takuwa. N, Arikawa. K, Yamaguchi. H Sugimoto. N Takuwa. Y. Sphingosine-1-phosphate G protein-coupled receptor subtype-specific, ligand-dependent bidirectional regulation of B16 melanoma cell migration, invasion, metastasis and tumor formation. XXXV International Congress of Physiological Sciences & Experimental Biology 2005 2005年4月
3. Sugimoto. N, Takuwa. N, Takuwa. Y. Lysophosphatidic acid (LPA) receptor LPA1/Edg2 generates both the stimulatory and inhibitory signals for Rac and cell migration. XXXV International Congress of Physiological Sciences & Experimental Biology 2005 2005年4月
4. Azam, Mohammed Ali , 吉岡 和晃, Wang, Y., 多久和 典子, 杉本 直俊, 多久和 陽 cAMPは血管平滑筋における膜脱分極誘発カルシウム依存性 Rho 活性化及びミオシン脱リン酸化酵素抑制を阻害する 第82回日本生理学会大会 2005年5月
5. 杉本 直俊, 多久和 典子, 多久和 陽 リゾフォスファチジン酸受容体 LPA1 による Rac 及び細胞遊走の促進及び抑制性の二重制御 第82回日本生理学会大会 2005年5月
6. 居軒 功, 多久和 典子, 杉本 直俊, 吉岡 和晃, 阪上 学, 高田 重男, 多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸は Edg5 受容体を介して血管内皮細胞の形態形成および血管新生を抑制する 第82回日本生理学会大会 2005年5月
7. 多久和 典子, 杉本 直俊, 尾山 治, 多久和 陽 S1P2 受容体を介した B16メラノーマ細胞の制御 第82回日本生理学会大会 2005年5月
- 8.
9. 吉岡 和晃、王 煌、モハメドアリ アザム、多久和 典子、杉本 直俊、桜

田 惣太郎、多久和 陽 PI3 キナーゼ C2 α アイソフォームは血管平滑筋収縮を制御する新規収縮シグナル伝達分子である 第47回日本脂質生化学会 2005年6月

10. 杉本 直俊、多久和 典子、多久和 陽 リゾフォスファチジン酸受容体 LPA1 による低分子量 Rac 及び細胞遊走の制御 第47回日本脂質生化学会 2005年6月
11. 居軒 功、多久和 典子、杉本 直俊、吉岡 和晃、多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸は特異的受容体 S1P2 を介して血管内皮細胞の遊走、形態形成、および血管新生を抑制する 第47回日本脂質生化学会 2005年6月
12. 多久和 典子、杉本 直俊、高島 伸一郎、尾山 治、大倉 誠一郎、多久和 陽 スフィンゴシン キナーゼ (SphK) 1 トランスジェニックマウスにおける心筋線維化発症とその病態生理の検討 第47回日本脂質生化学会 2005年6月
13. 尾山 治、多久和 典子、杉本 直俊、多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸情報伝達系の虚血後血管新生における役割の検討 第47回日本脂質生化学会 2005年6月
14. 多久和 陽 S1P・Edg システムの心血管病態生理における意義 第9回分子心血管会議 2005年8月
15. Development of cardiac fibrosis in sphingosine kinase 1 (SPHK1) transgenic mice: Noriko Takuwa, Seiichiroh Ohkura, Osamu Oyama, Shin-Ichiro Takashima, Naotoshi Sugimoto, Yoh Takuwa 第78回日本生化学会 2005年10月
16. S1P accelerates ischemia-induced angiogenesis in the mouse limb: Osamu Oyama, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Junji Koizumi, Yoh Takuwa 第78回日本生化学会 2005年10月
17. Lysophosphatidic acid (LPA)-induced cell migration inhibition is not dependent on ROCK-mediated reduction in PI3-kinase (PI3K) products: Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Yoh Takuwa 第78回日本生化学会 2005年10月
18. Phosphoinositide 3-kinase class II α regulates vascular smooth muscle contraction through Rho/Rho kinase and myosin phosphatase: Kazuaki Yoshioka, Yu Wang, Mohammed Ali Azam, Noriko Takuwa, Soutaro Sakurada, Yuji

Kayaba, Naotoshi Sugimoto, Isao Inoki, Takaharu Kimura, Tomoyuki Kuwaki, Yoh Takuwa 第78回日本生化学会 2005年10月

19. Forskolin inhibition of membrane depolarization-induced vascular smooth muscle contraction involves suppression of Ca²⁺-dependent Rho activation and myosin phosphatase inhibition: Mohammed Ali Azam, Kazuaki Yoshioka, Yu Wang, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Yoh Takuwa 第78回日本生化学会 2005年10月
20. Positive and negative regulation of cell motility by the blood lysophospholipid mediator sphingosine-1-phosphate and its pathophysiological implications Yoh Takuwa, Nagatoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Hironori Yamaguchi, Kayo Arikawa, So-ichiro Usui and Osamu Oyama 中国医科大合同シンポジウム 2005年10月
21. 多久和 陽、杉本 直俊、多久和 典子 生理活性脂質スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) による受容体サブタイプ特異的な細胞遊走・浸潤制御の分子機構 第28回日本分子生物学会年会 2005年12月
22. 多久和 陽、吉岡 和晃、王 焜、Mohammed Ali Azam、多久和 典子、杉本 直俊 血管平滑筋におけるカルシウム依存的 Rho 活性化を制御するシグナル分子 PIK-C2 α の同定 第83回 日本生理学会 2006年3月
23. 多久和典子、大倉 誓一郎、尾山 治、高島 伸一郎、杉本 直俊、多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸 産生酵素 スフィンゴシン キナーゼ 1 トランスジェニックマウスにおける心筋線維化発症とその分子機構 第83回 日本生理学会 2006年3月
24. 吉岡 和晃、アザム モハメド アリ、宮澤 秀和、多久和 典子、杉本 直俊、多久和 陽 PI3K-C2 α は血管平滑筋細胞のイオノマイシンによる Ca²⁺依存的 Rho 活性化と収縮に必須である。 第83回 日本生理学会 2006年3月
25. 杉本 直俊、多久和 典子、多久和 陽 リゾホスファチジン酸受容体 LPA1 による細胞遊走の抑制は、ROCK を介した PI3 キナーゼ産物レベルの抑制には依存しない 第83回 日本生理学会 2006年3月
26. 尾山 治、多久和 典子、杉本 直俊、小泉 順二、多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸はマウス下肢における虚血応答性血管新生を促進する 第83回 日本生理学会 2006年3月

27. 大倉 誓一郎、多久和 典子、高島 伸一郎、杉本 直俊、多久和 陽 スフィンゴシン-1-リン酸受容体 1(S1P1)トランスジェニックマウスにおける病的肥大心の発症と病態生理 第48回日本脂質生化学会 2006年6月
28. 杉本 直俊、多久和 典子、多久和 陽 S1P受容体 S1P2による細胞遊走抑制はがん抑制遺伝子産物 PTENに依存しない 第48回日本脂質生化学会 2006年6月
29. 吉岡 和晃、Wang Yu、Azam Mohammed Ali、宮澤 秀和、多久和 典子、杉本 直俊、多久和 陽 PI3キナーゼ・クラスII α はRho活性化を介してカルシウム依存性血管平滑筋収縮を制御する 第48回日本脂質生化学会 2006年6月
30. Kazuaki Yoshioka, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Mohammed Ali Azam, Takaharu Kimura, Yoh Takuwa Identification of class II phosphoinositide 3-kinase α -isoform as a regulator of myosin phosphatase and contraction in vascular smooth muscle cells 第20回国際生化学・分子生物学会議/ 第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第79回日本生化学会大会、第29回日本分子生物学会年会 2006年6月
31. Yoh Takuwa, Yu Wang, Kazuaki Yoshioka, Mohammed Ali Azam, Noriko Takuwa, Sotaro Sakurada, Naotoshi Sugimoto, Isao Inoki, Yuji Kayaba, Tomoyuki Kuwaki Phosphoinositide 3-kinase regulates Rho, myosin phosphatase and contraction in vascular smooth muscle 第20回国際生化学・分子生物学会議/ 第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第79回日本生化学会大会、第29回日本分子生物学会年会 2006年6月
32. Mohammed Ali Azam, Kazuaki Yoshioka, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Yoh Takuwa Forskolin inhibits membrane depolarization-induced Rho activation and contraction through inhibition of PI3K-C2 α in Vascular Smooth Muscle. 第20回国際生化学・分子生物学会議/ 第11回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第79回日本生化学会大会、第29回日本分子生物学会年会 2006年6月
33. Osamu Oyama, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Junji Koizumi, Yoh Takuwa Topical administration of Sphingosine-1-phosphate(S1P) stimulates ischemia-induced angiogenesis in the mouse limb 第20回国際生化学・分子生

- 物学会議/ 第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議
第 79 回日本生化学会大会、第 29 回日本分子生物学会年会 2006 年 6 月
34. Sei-Ichiro Ohkura, Shin-Ichiro Takashima, Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Motoko Sasaki, Kunitoshi Mitsumori, Masayuki Takamura, Shigeo Shigeo Takata, Shuh-ichi Kaneko, Yasuni Nakanuma, Yoh Takuwa Development of decompensated cardiac hypertrophy with fibrosis in transgenic mice that overexpress S1P1 under the control of a smooth muscle actin promoter 第 20 回国際生化学・分子生物学会議/ 第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第 79 回日本生化学会大会、第 29 回日本分子生物学会年会 2006 年 6 月
35. Noriko Takuwa, Sei-Ichiro Ohkura, Shin-Ichiro Takashima, Wa Du1, Osamu Oyama, Naotoshi Sugimoto, Motoko Sasaki, Yoshiko Banno, Kunitoshi Mitsumori, Tamotsu Tanaka, Kaoru Hirano, Kiyoshi Satouchi, Yasuni Nakanuma, Yoh Takuwa Age-dependent progression of cardiac fibrosis but not spontaneous malignancy in sphingosine kinase 1 transgenic mice 第 20 回国際生化学・分子生物学会議/ 第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第 79 回日本生化学会大会、第 29 回日本分子生物学会年会 2006 年 6 月
36. Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Yoh Takuwa Regulation of Akt activation and cell migration by Lysophosphatidic acid (LPA) 第 20 回国際生化学・分子生物学会議/ 第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第 79 回日本生化学会大会、第 29 回日本分子生物学会年会 2006 年 6 月
37. Isao Inoki, Noriko Takuwa, Naotoshi Sugimoto, Kazuaki Yoshioka, Yoh Takuwa Sphingosine-1-phosphate negatively regulates endothelial morphogenesis and angiogenesis via its receptor S1P2 第 20 回国際生化学・分子生物学会議/ 第 11 回アジア・オセアニア生化学者・分子生物学者連合会議 第 79 回日本生化学会大会、第 29 回日本分子生物学会年会 2006 年 6 月
38. Yoh Takuwa, “Receptor and Calcium Coupling to Myosin Light Chain Phosphatase” 2006 FASEB Summer Research Conferences Smooth Muscle 2006 年 7 月
39. Y. Takuwa, K. Yoshioka, M.A. Azam, N. Takuwa and N. Sugimoto: Negative regulation of myosin phosphatase by Ca²⁺ in vascular smooth muscle:

involvement of the novel Rho regulator phosphoinositide 3-kinase class II α isoform. Federation of Asian and Oceanian Physiological Scientists 2006. Symposium “Regulation of vascular tone”. (Seoul, Korea) 2006年10月

40. 吉岡 和晃、Mohammed Ali Azam, 多久和 典子、杉本 直俊、Wang Yu, 多久和 陽 カルシウムイオンによる Rac, Rac キナーゼ依存的なミオシン軽鎖ホスファターゼの抑制-PI3 キナーゼ・クラス II α の関与 第16回日本循環薬理学会 2006年11月
41. 多久和 陽、モハメド アリ アザム、吉岡 和晃、多久和 典子、杉本直俊 佐藤 晃一 サイクリック AMP による血管平滑筋 Ca²⁺-PI3KC2 α -Rho 経路の調節 筋生理の集い 2006年12月
42. Glycobiology and Sphingobiology 2007 (GS2007)- Hakomori Commemorative Forum – 徳島 2007年2月
43. 第71回日本循環器学会総会・学術集会 2007年3月
44. Kazuaki Yoshioka Class-II α Phosphoinositide 3-Kinase is an Essential Regulator of Ca²⁺-Dependent Rho Activation, Myosin Phosphatase and Contraction in Vascular Smooth Muscle Cells 第71回日本循環器学会総会・学術集会 2007年3月
45. Sei-Ichiro Ohkura, Shin-Ichiro Takashima, Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Motoko Sasaki, Kunitoshi Mitsumori, Masayuki Takamura, Shigeo Shigeo Takata, Shuh-ichi Kaneko, Yasuni Nakanuma, Yoh Takuwa. 第71回日本循環器学会総会・学術集会 2007年3月
46. Xun Qi, Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Osamu Oyama, Fei Wang, Yoh Takuwa Topical administration of sphingosine-1-phosphate (S1P) stimulates ischemia-induced angiogenesis in the mouse limb. 第84回日本生理学会大会 大阪 2007年3月
47. Naotoshi Sugimoto, Noriko Takuwa, Wa Du, Yoh Takuwa Mohammed Ali Azam, Kazuaki Yoshioka, Shinsuke Ohkura, Noriko Takuwa, Naotoshi Sphingosine 1-phosphate (S1P)-induced inhibition of cell migration and Rac is independent of S1P-induced stimulation of PTEN. 第84回日本生理学会大会 大阪 2007年3月
48. Sugimoto, Koichi Sato, and Yoh Takuwa Ca²⁺-independent, inhibitory effects of cyclic AMP on Ca²⁺ regulation of phosphoinositide 3-kinase C2 α , Rho and

myosin phosphatase in vascular smooth muscle. 第 84 回日本生理学会大会
大阪 2007 年 3 月

(3) 出版物

1. Y. Takuwa, N. Sugimoto, N.Takuwa, and Y. Igarasi Signaling mechanisms for positive and negative regulation of cell motility by sphingosine-1-phosphate receptors. *Sphingolipid Biology*. 2006; pp. 415-425 Y. Hirabayashi, Y. Igarashi, A.H. Merrill(Eds.) Springer

研究成果による工業所有権の出願・取得状況

工業所有権の名称	スフィンゴシン-1-リン酸を用いた血管新生を促進する方法
発明者	多久和 陽、尾山 治
権利者	金沢大学
工業所有権の種類, 番号	特願 2005-145422
出願年月日	2005. 5. 18
取得年月日	