

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 3 月 31 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所

職・氏名 (ふりがな) むらかみ まこと 副参事研究員・村上 誠

1. 事業名 相手国 (フランス) との共同研究 振興会対応機関 (CNRS)
2. 研究課題名 動脈硬化、炎症、癌における細胞外ホスホリパーゼA₂群の機能に関する分子基盤

3. 全採用期間

平成 21 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 (2 年 0 ヶ月)

4. 経費総額

(1) 本事業により執行した研究経費総額 5,000,000 円

初年度経費 2,500,000 円、 2年度経費 2,500,000 円、 3年度経費 0 円

(2) 本事業経費以外の国内における研究経費総額 33,400,000 円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者（代表者は除く）

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
山本 圭 <small>(やまもと けい)</small>	財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・研究員	sPLA ₂ の皮膚における機能
武富 芳隆 <small>(たけとみ よしたか)</small>	財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・研究員	sPLA ₂ のアレルギー応答における機能
佐藤 弘泰 <small>(さとう ひろやす)</small>	財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・ポスドク	sPLA ₂ の生殖・メタボリックシンドロームにおける機能
三木 寿美 <small>(みき よしみ)</small>	財団法人東京都医学研究機構・東京都臨床医学総合研究所・大学院博士後期課程2年	sPLA ₂ の炎症における機能

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名

UMR 6097 CNRS ・ Research Director ・ Gerard Lambeau

(3) 相手国参加者（代表者は除く）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
Dominique Douguet	CNRS-UNSA UMR6097 ・ Research Staff	sPLA ₂ 阻害剤の開発
Christine Payre	CNRS-UNSA UMR6097 ・ CNRS Ingenior	sPLA ₂ の癌における機能
Christophe Girard	CNRS-UNSA UMR6097 ・ Post-doctoral fellow	sPLA ₂ の動脈硬化における機能
Vanessa Moreira	CNRS-UNSA UMR6097 ・ Post-doctoral fellow	sPLA ₂ の培養細胞への作用
Charlaine Revel	CNRS-UNSA UMR6097 ・ Research assistant	sPLA ₂ の酵素学的性質
Ikram Jemel	CNRS-UNSA UMR6097 ・ PhD fellow	sPLA ₂ の精子における機能
Khaoula Chargui	CNRS-UNSA UMR6097 ・ CNRS Ingenior	リコンビナント sPLA ₂ の調整

6. 研究実績概要（全期間を通じた研究の目的・研究計画の実施状況・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

【目的】sPLA₂ (secreted PLA₂) はリン脂質分解酵素ホスホリパーゼ A₂ の一群であり、細胞外に分泌されるが、その機能は殆ど不明であった。本研究は、日仏双方が所有する sPLA₂ ファミリーの解析ツール（抗体、酵素、阻害剤、遺伝子改変マウスなど）を共有することにより、相互連携のもとに各アイソザイムが関わる生命現象を解明することを目的とした。

【実施状況】初年度は、双方が解析を進めていた精子における sPLA₂ の機能に主眼を置き、仏グループの日本訪問（21年5月）を経て *J Clin Invest* に同時投稿、その後リバイスの討論のために日本グループが仏を訪問し（21年11月）、年末に再投稿、22年度2月に同時採択となった。またこの間、動脈硬化、炎症、癌などにおける sPLA₂ アイソザイムの機能について、電子メールで相互連絡を取りつつ、遺伝子改変マウスの解析を推進した。2年次において、22年6月に日本で開催された国際会議で仏グループが動脈硬化に関して、また22年10月に仏で開催された学会で日本グループが生殖と皮膚に関して発表した。日本グループは国内学会（21年度脂質生化学会と生化学会、22年度 BMB2010）で研究成果の発表を行った。また22年6月には、日仏の代表者が Co-editor となって関連分野の総説誌を監修し、併せて共著総説を発表した。現在も次の共著論文発表に向けて準備を進めており、総じて共同研究はほぼ計画通りに順調に推移しているといえる。3年目の継続申請に採択されたことから、更なる発展が見込まれる。

【成果概要】

- ①III型 sPLA₂ と X型 sPLA₂ による生殖の時空間的な調節機構を共同研究により明らかにした。すなわち、III型 sPLA₂ は精巣上体上皮細胞から分泌され、内腔を通過する精子の膜リモデリングを制御することにより精子成熟を導く。III型 sPLA₂ 欠損マウスでは精巣上体での精子成熟が損なわれるため雄性不妊となる。一方、X型 sPLA₂ は精子のアクロソームに局在し、精子の活性化に伴って細胞外に放出され、アクロソーム反応を亢進する。X型 sPLA₂ 欠損マウスの精子はアクロソーム反応が起こりにくく、卵子との受精能が低下する。この成果は *J Clin Invest* に連報で発表した。
- ②日本グループは IIF型 sPLA₂ の過剰発現マウスが表皮肥厚、欠損マウスが表皮角質不全の表現型を示す事を見出した。そのメカニズム解析のために仏グループからリコンビナント IIF型 sPLA₂ の提供を受け、培養表皮細胞における本酵素の機能解析に使用中である。
- ③日本グループは III型 sPLA₂ 欠損マウスのアレルギー不応答性について解析し、III型 sPLA₂ が未分化なマスト細胞の組織中での成熟を制御している事を見出した。仏グループからリコンビナント酵素の提供を受けるとともに、共同で *in silico screening* による III型 sPLA₂ 阻害剤の開発を進めている。
- ④従来の概念では、X型 sPLA₂ は炎症酵素と考えられていた。日本グループは、X型 sPLA₂ 過剰発現マウスが（予想に反して）免疫応答抑制の表現型を示す事を見出した。一方、仏グループは X型 sPLA₂ 欠損マウスにおいて（予想に反して）動脈硬化が増悪することを見出した。すなわち、本酵素には炎症免疫応答を抑制する機能があり、そのため欠損マウスでは動脈の慢性炎症である動脈硬化の抑制が解除されて増悪に至るものと解釈される。この新規概念を共同または同時に論文発表すべく準備中である。
- ⑤日本グループは、IID型 sPLA₂ が樹状細胞特異的 sPLA₂ であり、その欠損は接触性皮膚炎の増悪を導くことを見出した。仏グループからリコンビナント酵素の提供を受け、培養表皮細胞における本酵素の機能解析に使用中である。
- ⑥仏グループは大腸癌における sPLA₂-X の役割について遺伝子改変マウスで検討したが、有意な差は見られなかった。一方、日本グループは sPLA₂-III 欠損マウスで大腸癌が生じにくいことを見出した。この点については3年目の継続共同研究期間中に総合討論を予定している。