

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 1 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2012

課題番号：20390508

研究課題名（和文） オーフアン GPCR 関連脂質を標的にした骨吸収性疾患の解析と治療法の開発

研究課題名（英文） Development of therapy targeting orphan GPCR-related lipid mediators for prevention of bone destruction

研究代表者

引地 尚子 (Hikiji Hisako)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：50292876

研究成果の概要（和文）：脂質メディエーターは、シグナル伝達を行う脂質の総称であるが、G 蛋白質共役受容体(GPCR)を介してその活性を現すことが多い。われわれは骨吸収性疾患に関連があると思われる GPCR を網羅的に検討した。その中の一つのロイコトリエン受容体の遺伝子抑制は骨吸収を抑制することができることを発表した。また、他の複数の GPCR についても骨疾患との関連性について解明が進んだ。

研究成果の概要（英文）：Lipids which mediate cell signals are called lipid mediators. Many lipid mediators exert their effects through G-protein coupled receptors (GPCR). We have investigated the GPCR-related lipid mediators which prevent bone destruction. We have reported that gene ablation of the receptor of leukotrienes (BLT1) inhibits the bone resorption. We have also clarified the bone-resorbing mechanisms in the other GPCRs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	6400000	1920000	8320000
2009 年度	2400000	720000	3120000
2010 年度	2600000	780000	3380000
年度			
年度			
総計	1140000	3420000	14820000

研究分野：医歯薬

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：骨吸収性疾患、脂質リガンド、脂質リガンド、オーファン受容体

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 骨吸収性疾患と脂質メディエーターおよび GPCR を主とするその受容体の関連性は、重要性が予想されるにも関わらず、ほとんど研究されていなかった。

(2) われわれは、脂質メディエーターおよびその GPCR の一つである血小板活性化因子 (PAF) と PAF レセプターにおいて骨吸収疾患の解明を行っており、研究実績・研究方

法の蓄積があった。

## 2. 研究の目的

(1) われわれはこれまで、脂質リガンド、受容体の骨疾患、骨代謝関連性について研究を進めてきたが、その結果、骨吸収作用を持つ、より重要な GPCR の存在を予想するようになった。

(2) 本研究ではこれらの受容体を選定し、in vivo, in vitro で骨吸収作用の解析を行うこと

を目的とする。  
また、GPCR アンタゴニストの骨吸収薬剤としての開発の可能性を検討することを目的とする。

### 3. 研究の方法

(1) 骨吸収に関連すると思われる GPCR を選定する。

(2) その受容体欠損マウスを作成し、in vivo, in vitro で骨吸収作用の解析を行う。

(3) さらに当該受容体のアンタゴニスト・アゴニストを用いて、病態マウスモデルに対し、治療薬開発の可能性を検討する。

### 4. 研究成果

(1) ロイコトリエン類のLTB4が好中球を主とする白血球を遊走させるメディエーターであることは広く知られている。また、LTB4の受容体にはBLT1やBLT2が知られている。骨代謝研究の分野において、ロイコトリエン類はプロスタグランジン類に比較して、非常に報告が少ない。プロスタグランジン類のPGE2は骨代謝における重要性が大きく広く研究されているが、ロイコトリエン類の骨代謝研究はほとんどされていなかった。

(2) 近年、BLT1 ノックアウトマウスを用いて、LTB4により浸潤した好中球が関節の炎症を惹起するという報告がなされたが、炎症に引き続きおきる骨吸収メカニズムへの関与に対しては全く述べられていなかった。In vitroの研究においても、LTB4の骨関連細胞に対する作用メカニズムはほとんど明らかではなかった。細胞内シグナルを含む分子生物学的検討も全くなされていなかった。2009年にわれわれが漸くLTB4のin vivoでの骨吸収促進作用とその分子生物学的機構の一端を明らかになった。

(3) マウスにおいては、卵巣摘除により骨粗鬆症モデルを作成することができる。一方リポポリサッカライド (Lipopolysaccharide, LPS) はグラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分であり、破骨細胞を活性化し骨吸収を促進する。卵巣摘除あるいはLPS投与により骨吸収疾患モデルを作成したとき、BLT1 ノックアウトマウスでは野生型マウスに比較して卵巣摘除あるいはLPS投与されても骨吸収がおきにくいことがわかった。

(4) LTB4にはBLT1およびBLT2の受容体があるが破骨細胞にはBLT1 mRNAしか発現が認められなかった。また、BLT1 ノックアウトマウス由来破骨細胞のカルシウム吸収能は野

生型マウス由来破骨細胞に比較して減少していることがわかった。さらにLTB4は、BLT1-Gi-Rac1の経路を介してBLT1を発現する破骨細胞の形態を変化させた。Rac1は細胞骨格に関与するRhoファミリーの低分子量Gタンパク質である。破骨細胞の細胞活性と形態変化とは密接な関係があることが知られているため、LTB4はパラクライン・オートクラインに作用してBLT1-Gi-Rac1経路を介して破骨細胞活性を増加することが示唆された。以上の結果は論文発表済みである。

(5) 現在まで、LTB4以外のロイコトリエン類で骨代謝機能が明らかにされたものはない。しかしLTB4に骨吸収促進作用があることが示されたので、今後ロイコトリエン類およびその受容体の骨代謝分野での研究の進展と骨吸収性疾患における臨床応用が現実的となった。本結果は国内外でも評価され、現在BLT1アンタゴニストと思われる薬剤が骨吸収性疾患に対する治療薬として臨床試験段階にある。

(6) BLT1以外の脂質メディエーターのGPCRについても複数選定を行った。

(7) また、そのうちの数種について、in vivo, in vitroでの骨代謝作用の検討を行った。今後順次発表予定である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Hatano N, Hikiji H, Matsubara M, Saijo H, Chikazu D, Ohashi K, Mori Y, Susami T, Yoda T, Takato T. Reiter's syndrome (reactive arthritis) with trismus after intravesical BCG immunotherapy: A case report. Asian. J. Oral. Maxillofac. Surg 23 : 25-27, 2011.
- ② Hikiji H, Kubota K, Takahashi Y, Kanehisa Y, Yoshino K, Sonoki K, Chiwata K, Inoue H, Tsujisawa T, Akiifusa S, Kakinoki Y, Nishihara T, Fukuta J. Perspectives on a new educational system for dental hygiene students in Japan. J. Dent. Edu. 75:563-571, 2011.
- ③ 井上博雅, 園木一男, 吉野賢一, 辻澤利行, 金久弥生, 高橋由希子, 日高勝美, 千綿かおる, 引地尚子, 久保田浩三, 柿木保明. 口腔保健学科1年生における problem-based learning (PBL) テュートリアル教育の導入.

- 九州歯会誌 64(6):230-239, 2011.
- ④ Saijo H, Mori Y, Fujihara H, Kanno Y, Chikazu D, Ohkubo K, Hikiji H, Iino M, Yonehara Y, Takato T. Evaluation and analysis of formation of bone at the palate in patients with cleft lip and palate after palatoplasty based on computed tomograms and three-dimensional data. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2010 Feb;44(1):21-5. DOI: 10.3109/02844310903350857
- ⑤ Chikazu D, Taguchi T, Koyama H, Hikiji H, Fujihara H, Suenaga H, Saijo H, Mori Y, Seto I, Iino M, Takato T. Improvement in wound healing by a novel synthetic collagen-gel dressing in genetically diabetic mice. *Asian. J. Oral Maxillofac. Surg*. 22:61-67, 2010.
- ⑥ 引地尚子. 脂質メディエーターと骨代謝. 九州歯会誌 64(3):59-65, 2010.
- ⑦ 近津大地、森良之、引地尚子、西條英人、高戸毅. 下顎枝垂直骨切り術により顎関節症状が改善した2症例. 日本形成外科学会会誌. 28:461-465, 2008.
- ⑧ Hikiji H, Ishii S, Yokomizo T, Takato T, and Shimizu T. A distinctive role of the leukotriene B4 receptor BLT1 in osteoclastic activity during bone loss. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 106:21294-21299, 2009. DOI: 10.1073/pnas.0905209106
- ⑨ Hikiji H, Takato T, Shimizu T, Ishii S: The roles of prostanoids, leukotrienes, and platelet-activating factor in bone metabolism and disease. *Progress Lipid Res*. 47:107-126, 2008. DOI:10.1016/j.plipres.2007.12.003
- ⑩ Chikazu D, Mori Y, Saijo H, Fujihara H, Ko E.C, Hikiji H, Yonehara Y, Takato T: A case of tumoural calcinosis in the temporomandibular joint associated with systemic sclerosis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*. 37(2):190-193, 2008.
- ⑪ Saijo H, Chikazu D, Mori Y, Hikiji H, Yonehara Y, and Takato T: Metastasis of prostate cancer to the mandibular condyle. *Asian. J. Oral. Maxillofac. Surg*. 20:86-88, 2008.
- [学会発表] (計 14 件)
- ① Training in the New Dental Hygiene Education Curriculum in Japan. 2010年11月20-21日、第58回国際歯科学研究学会(JADR)総会・学術大会 北九州 (11月20日, English)
- ② 齋藤健太郎, 森良之, 引地尚子, 菅野勇樹, 杉山円, 前田祐二郎, 宇波雅人, 末永英之, 阿部雅修, 古賀陽子, 大久保和美, 西條英人, 近津大地, 高戸毅. 右側上顎犬歯部歯肉に生じた腺腫様歯原性腫瘍の1例. 第64回日本口腔科学会総会. 2010年6月24日, 北海道
- ③ The leukotriene B4 receptor BLT1 in osteoclasts plays an important role in bone loss. Hikiji H, Ishii S, Yokomizo T, Shimizu T. FASEB Summer Research Conferences. Phospholipid Metabolism: Disease, Signal Transduction, and Membrane Dynamics. Steamboat Springs, Colorado June 27-July 2, 2010.
- ④ 引地尚子. ロイコトリエン B4 受容体 BLT1 の骨吸収機能の解析. 第28回日本骨代謝学会 東京, 2010年7月21-23日. (7月22日)
- ⑤ 引地尚子, 高橋由希子, 山下善弘, 富永和宏, 高橋哲, 福田仁一. 口腔外科手術後の口腔ケアに対するリスクアセスメント. 第55回日本口腔外科学会総会, 2010年10月16-18日, 千葉. (10月16日)
- ⑥ 大久保和美, 須佐美隆史, 松崎雅子, 長濱浩平, 飯野光喜, 森良之, 近津大地, 西條英人, 大木明子, 引地尚子, 高戸毅. 片側顎裂に対する二次的骨移植-術後早期の評価と成長終了後の評価- 第33回口蓋裂学会総会・学術集会, 2009年5月28-29日, 東京
- ⑦ 松原 稔, 引地尚子, 波田野典子, 西條英人, 近津大地, 森良之, 飯野光喜, 須佐美隆史, 依田哲也, 高戸毅. 東京大学医学部附属病院口腔外科顎関節外来を受診された患者についての臨床統計的考察. 第22回日本顎関節学会総会, 2009年7月25-26日, 東京
- ⑧ 引地尚子, 石井聡, 横溝岳彦, 清水孝雄. 骨吸収におけるロイコトリエン B4 受容体 BLT1 の機能解析. 第82回日本生化学会大会, 2009年10月21-24日, 神戸
- ⑨ 引地尚子, 近津大地, 西條英人, 小笠原徹, 森良之, 飯野光喜, 須佐美隆史, 高戸毅. 新規コラーゲンゲルと bFGF 併用による骨形成促進作用に関する検討. 第53回口腔外科学会総会 徳島, 2008年10月20-21日.
- ⑩ 杉山円, 須佐美隆史, 森良之, 大久保

和美, 近津大地, 西條英人, 高橋路子, 平野友紀子, 松崎雅子, 仲宗根愛子, 藤原久子, 大木明子, 引地尚子, 飯野光喜, 高戸毅: 口唇口蓋裂症例における上顎骨骨延長の術後評価. 第32回日本口蓋裂学会総会・学術集会, 2008年5月28-29日, 広島.

- ⑪ 波田野典子, 引地尚子, 仲宗根愛子, 萩原祐二, 依田哲也, 須佐美隆史, 高戸毅: 両側下顎頭変形および開咬を呈した全身性エリテマトーデス (SLE) の1例. 第21回日本顎関節学会総会・学術大会, 2008年7月26-27日, 大阪.
- ⑫ 近津大地, 引地尚子, 藤原久子, 末永英之, 杉山 円, 菅野勇樹, 西條英人, 小笠原徹, 森 良之, 飯野光喜, 高戸毅: 新規合成コラーゲンゲルドレッシング材による創傷治癒効果に関する研究第53回日本口腔外科学会総会, 2008年10月20-21日, 徳島.
- ⑬ 田口敬太, 西條英人, 森 良之, 末永英之, 林 伸子, 近津大地, 引地尚子, 飯野光喜, 高戸毅: 顔面多発骨折術後の二次変形に対して、頬骨形成術を施行した2例. 第186回日本口腔外科学会関東地方会, 2008年11月22日
- ⑭ Chikazu D, Taguchi T, Koyama H, Hikiji H, Fujihara H, Suenaga H, Saijo H, Mori Y., Iino M., and Takato T. Improvement in Wound Healing by a Novel Synthetic Collagen-gel Dressing in Diabetic Mice: 8th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery; November 3-7, 2008.

[図書] (計 1 件)

1. 引地尚子. 第1章 7節 顎の外れを繰り返す患者が来院したら? 医師・歯科医師のための口腔診療必携. p 102, 金原出版, 2010.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:

種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等 無

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

引地 尚子 (Hikiji Hisako)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号: 50292876

### (2) 研究分担者

西原達次 (Nishihara Tatsuji)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号: 80192251

中村元直 (Nakamura Motonao)  
東京大学大学院・医学系研究科・准教授  
研究者番号: 40431762

石井 聡 (Ishii Satoshi)  
秋田大学・医学部・教授  
研究者番号: 10300815

高戸 毅 (Takato Tsuyoshi)  
東京大学・医学部附属病院・教授  
研究者番号: 90171454

小山博之 (Koyama Hiroyuki)  
東京大学・医学部附属病院・特任准教授  
研究者番号: 10241994

高橋由希子 (Takahashi Yukiko)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号: 10582778

### (3) 研究協力者

清水孝雄 (Shimizu Takao)  
東京大学大学院・医学系研究科・教授  
研究者番号