

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390467

研究課題名(和文) 脂質メディエーター関連GPCR標的薬を用いた新規骨吸収性疾患治療法の戦略的開発

研究課題名(英文) Development of therapy targeting lipid mediator-related GPCRs for prevention of bone resorptive diseases

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円、(間接経費) 4,380,000円

研究成果の概要(和文)：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を検討した。脂質をリガンドとする可能性の考えられたGPCRのうち、これまでの概念と全く異なる様式で活性化される受容体TDAG8について骨疾患における役割が解明された。

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 lipid mediator-related GPCRs which prevent bone resorptive diseases. We have reported that gene ablation of the receptor of TDAG8 accelerates the bone resorption. TDAG8, which has been considered as the GPCR of the lipids, is activated through the different mechanisms.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯科医学

キーワード：GPCR 骨吸収性疾患 オーフアン受容体 脂質

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い。

(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 レセプター及びロイコトリエンとそのリセプター (BLT1) 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) GPCR は多くの脂質メディエーターをリガンドとする受容体であることは広く知られている。TDAG8 (T cell death associated gene 8) は、リゾリン脂質の一つであるガラクトシルホスホリルコリン (サイコシン) の受容体であることが報告されていた。

(2) 近年、TDAG8 ほかいくつかの GPCR がプロトン感知性であることがわかってきた。しかし、その生理学的役割についてはほとんど知られておらず、特に、骨吸収メカニズムへの関与に対しては全く検討されていなかった。*In vitro* の研究においても、TDAG8 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く、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。2013 年、われわれは TDAG8 の *in vivo* での骨吸収抑制作用とその分子生物学的機構の一端を明らかにした。

(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。卵巣摘除より骨吸収疾患モデルを作成したとき、TDAG8 ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して卵巣摘除するとより骨吸収がおきやすくなることがわかった。

(4) 知られているプロトン感受性 GPCR のうち、破骨細胞には GPR4 を除く TDAG8、G2A、OGR-1 の mRNA の発現が認められた。また、TDAG8 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増加していることがわかった。さらに TDAG8 は、Rho ファミリー G タンパク質のうち、RhoA の経路を介して TDAG8 を発現する破骨細胞の形態を変化させた。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、酸はパラクライン・オートクラインに作用して TDAG8-RhoA 経路を介して破骨細胞活性を抑制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) TDAG8 に骨吸収抑制作用があることが示されたので、今後骨代謝分野でのプロトン感受性 GPCR 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。

(6) TDAG8 以外の GPCR についても複数選定を行い、*in vivo*、*in vitro* での骨代謝作用の検討を行っている。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 12 件)

1. Hisako Hikiji, Ken Tomizuka, Tetsushi Taguchi, Hiroyuki Koyama, Daichi Chikazu, Yoshiyuki Mori, Tsuyoshi Takato. An *in vivo* murine model for screening cranial bone regenerative materials: testing of a novel synthetic collagen gel. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, in press.
2. Hisako Hikiji, Daisuke Endo, Kyoji Horie, Takeshi Harayama, Noriyuki Akahoshi, Hidemitsu Igarashi, Yasuyuki Kihara, Keisuke Yanagida, Junji Takeda, Takehiko Koji, Takao Shimizu, and Satoshi Ishii. TDAG8 activation inhibits osteoclastic bone resorption. *FASEB J.*, Feb 2014; 28: 871 - 879. doi:10.1096/fj.13-233106
3. 國領真也, 永尾史徳, 靄岡祥子, 富永和宏, 引地尚子. 歯学部臨床実習生における口腔内科教育プログラムの作成と実践およびその評価. *九州歯科学会雑誌* 67(3):57-62, 2013.
4. 國領真也, 靄岡祥子, 永尾史徳, 富永

和宏, 引地尚子. 九州歯科大学附属病院口腔粘膜科における新来患者の臨床統計学的検討. 九州歯科学会雑誌 67(2):33-39, 2013.

5. Nagai Y, Osawa K, Fukushima H, Tamura Y, Aoki K, Ohya K, Yasuda H, Hikiji H, Kato S, Honda H, Nakamura I, Maki K, Jimi E. p130Cas plays important roles in osteoclastic bone resorption. J. Bone Miner. Res. 28: 2449-2462, 2013. doi: 10.1002/jbmr.1936.
6. 秋房住郎, 引地尚子, 鱒見進一, 柿木保明, 西原達次. 病院, 介護老人保健施設および老人福祉施設における九州歯科大学口腔保健学科修士課程の設置に関するアンケート調査. 九州歯科学会雑誌. 66(3):79-86, 2012.
7. 引地尚子, 永尾史徳, 鶴岡祥子, 國領真也, 寺下正道, 高橋哲, 富永和宏, 住田隼一, 福田仁一. 口腔粘膜疾患を診断するための mucoscopy の試み. 九州歯科学会雑誌. 65(5,6):192-197, 2012.
8. 園木一男, 引地尚子, 井上博雅, 千綿かおる, 高橋由希子, 久保田浩三, 金久弥生, 吉野賢一, 辻澤利行, 秋房住郎, 日高勝美, 中村太志, 笠井宏記, 村岡宏, 柿木保明, 西原達次. 九州歯科大学新入生口腔健康診断における性格特性と口腔環境との関係. 九州歯科学会雑誌. 65(3):83-91, 2011.
9. 引地尚子, 金久弥生, 辻澤利行, 吉野賢一, 井上博雅, 尾崎由衛, 榊原葉子, 遠藤真美, 柿木保明, 秋房住郎, 西原達次, 福田仁一. 九州歯科大学新入生口腔健康診断の検討(その2) -新入生口腔健康調査の概要-. 九州歯科学会雑誌 65(2): 40-47, 2011.
10. 引地尚子, 高橋由希子, 久保田浩三, 園木一男, 村岡宏祐, 笠井宏記, 中村太志, 千綿かおる, 日高勝美, 柿木保明, 西原達次, 福田仁一. 九州歯科大学新入生口腔健康診断の検討(その1) -新入生口腔健康診断の概要-. 九州歯科学会雑誌 65(2):31-39, 2011.
11. 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. 九州歯科学会雑誌 64(6):230-239, 2011.
12. 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.

〔学会発表〕(計 22件)

1. 谷口広祐, 引地尚子, 沖永敏則, 西原達次. Tumor associated macrophage におけるアシル基転移酵素群の役割. 第55回歯科基礎医学会学術大会・総会岡山, 平成25年9月20-22日.
2. 國領真也, 鶴岡祥子, 齋藤謙太郎, 引地尚子, 富永和宏, 吉岡泉. 当科における口腔扁平苔癬の臨床的検討. 第23回日本口腔内科学会・第26回日本口腔診断学会 合同学術大会 東京, 平成25年9月13-14日(9月14日).
3. 齋藤謙太郎, 土生学, 大谷泰志, 國領真也, 永尾史徳, 引地尚子, 吉岡泉, 富永和宏. 口腔内写真を用いた口腔粘膜疾患診断支援システムの構築. 第23回日本口腔内科学会・第26回日本口腔診断学会 合同学術大会 東京, 平成25年9月13-14日(9月13日).
4. 齋藤謙太郎, 土生学, 大谷泰志, 園領真也, 永尾史徳, 高橋理, 鶴岡祥子, 引地尚子, 富永和宏. 口腔内写真を用いた口腔粘膜疾患診断支援システムの構築. 第67回NPO法人日本口腔科学会学術集会 栃木, 平成25年5月22-24日(5月24日).
5. 國領真也, 永尾史徳, 鶴岡祥子, 高橋理, 西川健, 富永和宏, 引地尚子. 歯学部臨床実習生における口腔内科教育プログラムの作成と実践およびその評価. 第67回NPO法人日本口腔科学会学術集会 栃木, 平成25年5月22-24日(5月24日).
6. 齋藤謙太郎, 土生学, 園領真也, 永尾史徳, 鶴岡祥子, 引地尚子, 富永和宏. 口腔内写真を用いた口腔粘膜疾患診断支援システムの構築. 第73回九州歯科学会総会学術大会 北九州, 2013年5月18-19日.(5月18日).
7. 自見英治郎, 永井香絵, 大津賢次, 引地尚子, 瀬田祐司, 牧憲司, 福島秀文. p130Cas は Src-Pyk2-Dock5 複合体を形成することで, Rac1 の活性を調節し, 骨吸収を制御する. 第73回九州歯科学会総会学術大会 北九州, 2012年5月18-19日.(5月18日).
8. 引地尚子, 富塚健, 田口哲志, 小山博之, 近津大地, 高戸毅. マウスモデルを用いた頭蓋領域骨欠損の修復材料に対するスクリーニング法の開発. 第12回日本再生医療学会総会. 横浜, 2013年3月21-23日.(3月21日).
9. 鶴岡祥子, 引地尚子, 國領真也, 永尾史徳, 西川健, 高橋哲, 富永和宏, 福田仁一. 口腔粘膜疾患診療チャートを用いた経験年数の少ない歯科医師教育の試みとその評価. 第57回日本口腔

- 外科学会総会・学術大会，横浜，2012年10月19-21日。(10月20日)
10. 引地尚子, 永尾史徳, 靄岡祥子, 西川 健, 國領真也, 高橋 哲, 富永和宏, 福田仁一. 口腔粘膜疾患診断に有効な口腔内拡大観察法(mucoscopy)開発の試み. 第57回日本口腔外科学会総会・学術大会, 横浜, 2012年10月19-21日。(10月20日)
 11. 永尾史徳, 國領真也, 靄岡祥子, 楨原絵理, 土生 学, 椎葉俊司, 富永和宏, 高橋 哲, 鱒見進一, 森本泰宏, 引地尚子. 九州歯科大学附属病院顎関節症科における新来患者の臨床統計学的検討. 第25回日本顎関節学会総会・学術大会, 札幌, 2012年7月14-15日。(7月14日)
 12. 千綿かおる, 金久弥生, 高橋由希子, 園木一男, 引地尚子, 久保田浩三, 井上博雅, 吉野賢一, 日高勝美, 秋房住郎, 辻澤利行, 柿本保明. 歯科衛生士4年制教育における「歯科診療補助」講義・実習科目の習熟に関する研究. 第72回九州歯科学会総会学術大会北九州, 2012年5月19-20日。(5月20日)
 13. 靄岡祥子, 引地尚子, 國領真也, 永尾史徳, 高橋 哲, 富永和宏, 寺下正道, 福田仁一. 外来診療における口腔粘膜疾患診断・治療用チャートの作成. 第72回九州歯科学会総会学術大会北九州, 2012年5月19-20日。(5月20日)
 14. 永尾史徳, 國領真也, 靄岡祥子, 引地尚子, 富永和宏, 高橋 哲, 楨原絵里, 鱒見進一, 森本泰宏, 椎葉俊司, 寺下正道, 福田仁一. 九州歯科大学附属病院顎関節症科の新来患者の臨床統計学的検討. 第72回九州歯科学会総会学術大会北九州, 2012年5月19-20日。(5月20日)
 15. 引地尚子, 永尾史徳, 靄岡祥子, 國領真也, 寺下正道, 高橋 哲, 富永和宏, 福田仁一. 口腔粘膜疾患を診断するための mucoscopy の試み. 第72回九州歯科学会総会学術大会北九州, 2012年5月19-20日。(5月20日)
 16. 靄岡祥子, 引地尚子, 國領真也, 永尾史徳, 高橋哲, 富永和宏, 福田仁一. 口腔粘膜疾患診療プロトコルによる経験年数の少ない歯科医師の教育. 第66回日本口腔科学会学術集会 広島, 2012年5月17-18日。(5月17日)
 17. 靄岡祥子, 引地尚子, 國領真也, 永尾史徳, 高橋哲, 富永和宏, 寺下正道, 福田仁一. 経験年数の少ない歯科医師のための口腔粘膜疾患診療チャートの作成. 第21回日本口腔粘膜学会総会・学術集会 鹿児島, 2011年9月24-25日。(9月24日)
 18. 森純子, 木戸雅美, 金久弥生, 引地尚子. 済生会八幡総合病院における口腔ケア介入 6カ月後の評価とこれからの課題. 第8回日本口腔ケア学会総会・学術大会 東京, 2011年6月18-19日。(6月19日)
 19. 森純子, 木戸雅美, 金久弥生, 引地尚子. 済生会八幡総合病院における歯科・歯科口腔外科開設前の入院患者の口腔実態調査. 第8回日本口腔ケア学会総会・学術大会 東京, 2011年6月18-19日。(6月18日)
 20. 引地尚子, 金久弥生, 辻澤利行, 吉野賢一, 井上博雅, 秋房住郎, 尾崎由衛, 原葉子, 遠藤眞美, 柿本保明, 西原達次, 福田仁一. 九州歯科大学新入生口腔健康診断の検討(その2) 新入生口腔健康調査の概要 第71回九州歯科学会総会 北九州, 2011年5月28-29日.
 21. 引地尚子, 高橋由希子, 久保田浩三, 園木一男, 村岡宏祐, 笠井宏記, 中村太志, 千綿かおる, 日高勝美, 柿本保明, 西原達次, 福田仁一. 九州歯科大学新入生口腔健康診断の検討(その1) 新入生口腔健康診断の概要 第71回九州歯科学会総会 北九州, 2011年5月28-29日.
 22. 井上博雅, 園 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, 柿本保明. 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. 第71回九州歯科学会総会 北九州, 2011年5月28-29日.
- 〔図書〕(計 2件)
1. 引地尚子. 口腔の損傷「口腔外科学・歯科麻酔学」p48-61, クインテッセンス出版, 2013.
 2. 引地尚子. 口唇口蓋裂 1. 出生前診断 2. 哺乳・術前外鼻矯正 「口腔科学」p55-58, 朝倉書店, 2013.
- 〔その他〕
1. 引地尚子. 「口内炎(舌炎、アフタなど)」今日の臨床サポート. <https://clinicalsup.jp/jpoc/login.aspx?ReturnUrl=%2fjpoc%2f>, エルゼビア出版, 2013.
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)
岡山理科大学 理学部 臨床生命科学科
教授
研究者番号：40431762

(3)研究協力者

清水孝雄 (Shimizu Takao)
国立国際医療研究センター 研究所長
研究者番号：80127092