

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790699

研究課題名（和文） 破骨細胞の分化誘導と活性化における S1P/S1P1 シグナルの役割

研究課題名（英文） The role of Sphingosine 1-phosphate(S1P)/S1P1 Signaling in the Osteoclastogenesis.

研究代表者

北野 将康 (KITANO MASAYASU)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：00412031

研究成果の概要：

スフィンゴシン 1 リン酸は、関節リウマチ(RA)滑膜細胞での RANKL 発現を増強することにより RA での骨破壊に促進的に作用する。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	0	1,600,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	450,000	3,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：膠原病・アレルギー・感染症内科学

キーワード：スフィンゴシン 1-リン酸(S1P)、破骨細胞、関節リウマチ(RA)

1. 研究開始当初の背景

スフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) は細胞膜の構成成分である、スフィンゴミエリンからセラミド、スフィンゴシンと代謝され、スフィンゴシンキナーゼ (SphK) でリン酸化されることで派生するリン脂質である。近年、免疫異常・血管新生・炎症・発癌などに深く関与する生理活性脂質として注目されている。これまでに、報告者らは関節リウマチ(RA)病態での S1P/S1P レセプター1(S1P₁)シグナルの

役割に着目し検討を続けてきた。その成果として、(1)RA 滑膜組織において増殖した滑膜細胞、血管内皮細胞、浸潤した炎症性単核球に S1P₁が強発現していること、(2)RA 患者の関節滑液中に高濃度に S1P が存在すること、(3)局所での S1P 産生亢進に関して RA 滑膜での S1P 誘導酵素である SphK1 発現の亢進が認められること、(4)S1P/S1P₁シグナルが RA 滑膜細胞での細胞増殖と COX-2 誘導を介した PGE₂ 産生を強く促進することを報告した

(Arthritis Rheum, 54:742-53, 2006)。しかし RA の骨破壊における破骨細胞新生に対する S1P/S1P₁ シグナルの役割については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

RA での骨破壊に対する S1P の関与を明らかにすることである。具体的には RA 滑膜細胞での RANKL 発現における S1P/S1P₁ シグナルの役割を明らかにする。

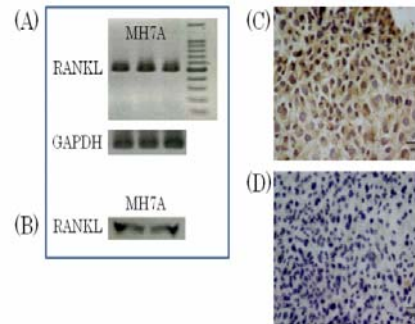
3. 研究の方法

(1) ヒト RA 滑膜細胞株:MH7A 細胞での RANKL mRNA と蛋白発現を RT-PCR 法、抗ヒト RANKL 抗体を用いた免疫染色と western blot 法で検討した。(2)MH7A 細胞での RANKL 発現に及ぼす S1P の効果の検討: MH7A 細胞に対し S1P (0~1 μM) を添加培養し 6・12・24 時間培養後に培養細胞を回収し MH7A 細胞での RANKL mRNA の発現を RT-PCR 法で解析した。さらに MH7A 細胞に対する S1P の効果が Gi/G0 特異的阻害剤である百日咳菌毒素 (PTX) に感受性か否かを検討した。

4. 研究成果

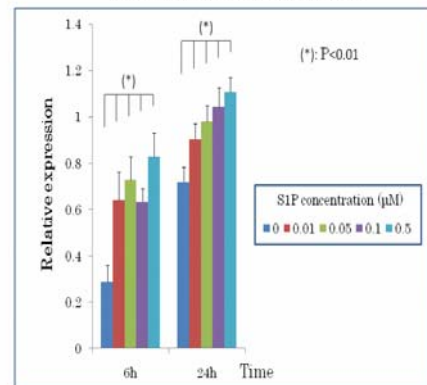
(1)MH7A細胞ではRANKL mRNAと蛋白の発現を認めた。(2)低濃度のS1P (~0.5 μM) は時間依存性・濃度依存性にMH7A細胞でのRANKL mRNA 発現を亢進した。さらにPTXの前処置によりS1PのMH7A細胞でのRANKL mRNA発現増強は抑制された。本研究ではRA滑膜細胞でのRANKL 発現に対するS1P/S1P₁シグナルの役割を明らかにした。S1PがRANKL発現を介し破骨細胞新生を促進させる因子であるならば、S1P/S1P₁シグナルの制御がRAの骨破壊を含めた難治性病態の改善につながる可能性がある。

Figure 1. The expression of RANKL mRNA and protein in MH7A cells.



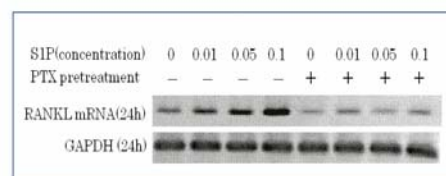
MH7A cells expressed RANKL mRNA and protein. (A) RT-PCR analysis for RANKL (B) Western blot analysis for RANKL (C) RANKL immunostaining of MH7A cells. (D) Negative control for RANKL immunostaining of MH7A cells.

Figure 2. The Effect of S1P on the Expression of RANKL mRNA in MH7A Cells.



Treatment with S1P at concentrations ranging from 0.01μM to 0.5μM enhanced the RANKL mRNA expression of MH7A cells in a dose dependent manner.

Figure 3. The Effect of Pertussis toxin (PTX) on S1P-enhanced RANKL mRNA Expression in MH7A Cells.



Pretreatment with PTX inhibited S1P-enhanced RANKL mRNA expression in MH7A cells.

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 2 件)

(1) 北野将康、関口昌弘、常見 幸、橋本尚明、岩崎 剛、佐野 統. 自己免疫疾患におけるスフィンゴシン 1 燐酸(S1P)/S1P レセプターシグナルの役割—関節リウマチとシェーグレン症候群を中心に—. ミノファーマグレンメディカルレビュー, 査読無し, 53:135-45, 2008.

(2) 北野将康 (2008) スフィンゴシン 1-リン酸(S1P)/S1P 受容体シグナルの関節リウマチ病態における役割. 兵庫医科大学医学会雑誌, 33, 49-54.

[学会発表] (計 件)

(1) 北野将康, 竹下治範, 北野幸恵, 関口昌弘, 常見 幸, 黒岩孝則, 橋本尚明, 松井 聖, 岩崎 剛, 佐野 統(2008) 関節リウマチ滑膜細胞での RANKL 発現における Sphingosine 1-phosphate/S1P1 シグナルの役割. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12. 3, 京都.

(2) 常見 幸, 岩崎 剛, 北野幸恵, 関口昌弘, 今戸健人, 北野将康, 佐野 統. (2008) 関節リウマチモデルマウスに対する FTY720 による関節炎抑制効果の検討. 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 12. 1, 京都

(3) Sekiguchi, M., Iwasaki, T., Kitano, M., Hashimoto, N., Kitano, S., Hla, T and Sano, H. (2008) Th17 and Foxp3 regulatory T cells(Tregs) in primary Sjogren's Syndrome (SS): role of Sphingosine 1-phosphate (S1P). The 72th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology, 10. 24-29, San Francisco, U. S. A.

(4) 常見 幸, 関口昌弘, 北野将康, 佐野統(2008) 関節リウマチモデルマウスにおける FTY720 による関節炎抑制効果. 第 29 回日本炎症・再生医学会, 7. 10, 東京.

(5) Kitano, M., Takeshita, H., Tsunemi, S., Kitano, S., Sekiguchi, M., Nishioka, A., Azuma, N., Hashimoto, N., Iwasaki, T., Hla, T and Sano, H. (2008) The role of sphingosine 1-Phosphate/S1P1 signaling in the osteoclastogenesis via RANKL expression of rheumatoid synoviocytes. Annual European Congress of Rheumatology (EULAR2008), 6. 13, Paris, France.

(6) Tsunemi, S., Iwasaki, T., Kitano, M., Sekiguchi, M, Kitano, S., Imado, T. and Sano, H. (2008) Treatment of a murine arthritis model, SKG mouse, by FTY720 a new immunosuppressant. Annual European Congress of Rheumatology (EULAR2008), 6. 13, Paris, France.

(7) 北野将康, 関口昌弘, 常見 幸, 神田ちえり, 西岡亜紀, 東 直人, 黒岩孝則, 橋本尚明, 松井 聖, 岩崎 剛, 佐野 統 (2008) 炎症性サイトカインはリウマチ滑膜細胞でのスフィンゴシン 1 燐酸/スフィンゴシン 1 燐酸レセプター1 シグナルを増強する. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会 (JCR2008), 4. 20-23, 札幌.

(8) 北野将康, 関口昌弘, 常見 幸, 東直人, 岩崎 剛, 佐野 統 (2008) Sphingosine 1-Phosphate/S1P₁ レセプターシグナルの関節リウマチ病態における役割. 第 11 回京都免疫ワークショップ学術集会, 3. 22, 京都.

(9) 北野将康 (2007) Sphingosine 1-phosphate/S1P1 レセプターシグナルの関節リウマチ病態における役割. 平成 19 年度第 3 回兵庫医科大学医学会学術講演会, 11. 27, 西宮.

(10) 北野将康, 関口昌弘, 神田ちえり, 西岡亜紀, 東 直人, 黒岩孝則, 橋本尚明, 松井聖, 岩崎 剛, 佐野 統 (2007) Sphingosine 1-Phosphate/S1P1 レセプターシグナルの関節リウマチ病態における役割. 第 59 回関西カルシウム懇話会, 10. 6, 大阪.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北野 将康 (KITANO MASAYASU)
兵庫医科大学・医学部・助教
研究者番号：00412031

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：