

平成 22 年 5 月 28 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790232

研究課題名 (和文)

ロイコトリエン受容体の新規リガンドの同定と機能解析

研究課題名 (英文)

Identification and characterization of a new ligand of BLT2

研究代表者

奥野 利明 (OKUNO TOSHIAKI)

九州大学・大学院医学研究院・医化学分野・助教

研究者番号：60361466

研究成果の概要 (和文)：申請者は、低親和性ロイコトリエン B4 受容体として同定された BLT2 の生体内脂質リガンドが、12-ヒドロキシ-エノイック酸(12-HHT)であることを発見した。12-HHT の生体内での役割を明らかにするために、BLT2 の遺伝子欠損マウスを作製・解析したところ、BLT2 が炎症性腸疾患に関わることがわかった。また BLT2 のヘリックス 8 と称される細胞内ドメインが、BLT2 の細胞膜への輸送に関わることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：I found that 12-hydroxy-heptadeca-trienoic acid (12-HHT) is a natural ligand for BLT2, which was originally identified as a low-affinity leukotriene B4 receptor. From analyses of BLT2 deficient mice, we found that BLT2 is involved in inflammatory bowel disease, and we found that helix 8 of BLT2 C-terminal is involved in receptor trafficking to the plasma membrane.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：生化学、分子生物学

科研費の分科・細目：医化学一般

キーワード：生理活性脂質、受容体

1. 研究開始当初の背景

申請者は、低親和性のロイコトリエン B4 受容体として同定された BLT2 の生体内脂質リガンドが、12-ヒドロキシ-エノイック酸(12-HHT)であることを発見した。そこで、12-HHT や BLT2 の生体内の役割を明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

シクロオキシゲナーゼ代謝物として発見された 12-HHT は、過去 30 年あまりの間、生理活性の無い脂質と考えられていたが、BLT2 を介して生理機能を有することが明らかになった。本研究では、(1)BLT2 の生理機能を明らかにすること、また(2)BLT2 の受容体機能に必要な新規ドメインを明らかにす

ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1)BLT2 遺伝子欠損マウスを用いて、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘発性大腸炎モデルを作製し、BLT2 の炎症性腸疾患における機能を明らかにする。(2)また BLT2 のヘリックス8 変異体を作製し、細胞膜表面での発現量や細胞内シグナル活性化を観察する。

4. 研究成果

(1)マウスの小腸や大腸において BLT2 が発現していること、また 12-HHT が小腸に多く存在していたことから、BLT2 遺伝子欠損マウスのデキストラン硫酸塩(DSS)大腸炎モデルを用いた解析を行った。その結果、BLT2 遺伝子欠損マウスが野生型マウスに比べて、重篤な体重減少と炎症の亢進を示した。これらの結果は、BLT2 アゴニストの 12-HHT が、未だ原因が明らかでないクローン病等の治療に役立つ可能性を示唆している(論文投稿中)

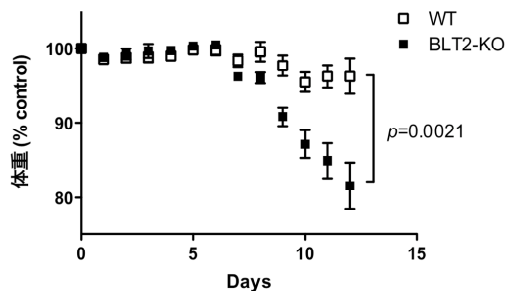


図 終濃度1%になるようにDSSを飲料水に溶解し、野生型と BLT2 欠損マウスの体重変化を観察した

(2)また、申請者は G タンパク質共役型受容体の細胞内 C 末端に存在する新規ドメインとしてヘリックス 8 を同定し、BLT1 のヘリックス 8 が受容体活性化後の受容体不活性化に関わることを示し、既に報告している(Okuno JBC, 2003, 2005)。今回、BLT2 のヘリックス 8 の変異体を複数作製し、野生型受容体とともに過剰発現細胞を樹立し、受容体の細胞内局在やリガンド応答性について解析した。その結果、BLT2 のヘリックス 8 が、受容体の正しい立体構造の保持に必要であり、細胞膜輸送に関わることを明らかにした(Yasuda, Okuno, FASEB J, 2009)。

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 4 件)

Okuno T, Iizuka Y, Okazaki H, Yokomizo T, Taguchi R, Shimizu T
12(S)- Hydroxyheptadeca- 5Z, 8E, 10E- trienoic acid is a natural ligand for

leukotriene B4 receptor 2
J. Exp. Med., 205, 759-766, 2008

Yasuda D, Okuno T, Yokomizo T, Hori T, Hirota N, Hashidate T, Miyano M, Shimizu T, Nakamura M.

Helix 8 of leukotriene B4 type-2 receptor is required for the folding to pass the quality control in the endoplasmic reticulum
FASEB Journal, 23(5), 1470-1481, 2009

奥野利明、横溝岳彦

ロイコトリエンと炎症・免疫
炎症と免疫, 17(4), 373-378, 2009

奥野利明

ロイコトリエン B4 第二受容体(BLT2)の生体内リガンドは 12-HHT である
実験医学 カレントトピック, 2008

[学会発表] (計 25 件)

Okuno 12-HHT, a Metabolite of Cyclooxygenase, is a natural Ligand for Leukotriene B4 Receptor 2, BLT2
Gordon Research Conference
2009 年 6 月 8 日 ニューイングランド大学

荒武良総、奥野利明、横溝岳彦, G タンパク質共役型受容体の細胞内移行の分子機序, 第 4 回 GCOE 理医連携リトリート
2009 年 8 月 8 日 熊本

松延武彦、奥野利明、横溝岳彦, オーフアン GPCR の新規脂質リガンド探索
第 4 回 GCOE 理医連携リトリート
2009 年 8 月 8 日 熊本

Okazaki H, Matsunobu T, Okuno T, Tokomizo T, DEFICIENCY OF LEUKOTRIENE B4 RECEPTORS AFFECTS TUMOR METASTASIS
第 4 回 GCOE 理医連携リトリート
2009 年 8 月 8 日 熊本

Okuno 12-HHT is a natural ligand for leukotriene B4 receptor 2
BLT2 International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators
2009 年 5 月 27 日 東京

Okuno 12-HHT, a Metabolite of Cyclooxygenase, is a natural Ligand for Leukotriene B4 Receptor 2, BLT2
The 5 th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences
2009 年 5 月 25 日 東京

奥野利明 ロイコトリエンB4第二受容体BLT2
の生体内リガンドの同定
日本生化学会九州支部
(学術奨励賞受賞講演)
2009年5月17日 福岡

奥野利明 ロイコトリエン B4 第2受容体
BLT2の内在性リガンドの同定
生命科学系 GCOE ネットワーク・フォーラム
2009
2009年2月14日 東京

奥野利明 ロイコトリエンB4第二受容体BLT2
の生体内リガンドの同定
Gタンパク質特定領域・膜輸送複合体特定領
域
合同若手ワークショップ
2009年1月30日 神戸

安田大恭、奥野利明、横溝岳彦、清水孝雄、
中村元直
GPCRが有する Helix 8 の小胞体搬出における
意義, Gタンパク質特定領域・膜輸送複合体特
定領域
合同若手ワークショップ
2009年1月30日 神戸

Okuno 12-HHT, a Metabolite of
Cyclooxygenase, is a Natural Ligand for
Leukotriene B4 Receptor 2, BLT2
Japan/Korea Conference on Cellular
Signaling
2008年12月19日 福岡

奥野利明 ロイコトリエンB4第二受容体BLT2
の生体内リガンドの同定
第81回日本生化学会大会合同大会シンポジ
ウム 2008年12月11日 神戸

荒武良総、奥野利明、横溝岳彦
ロイコトリエン B4 第一受容体 BLT1 と血小板
活性化因子受容体 PAFR の脱感作機構
第81回日本生化学会大会合同大会
2008年12月12日 神戸

Sasaki, F, Onohara, N, Okuno, T, Yokomizo
T.
Generation and characterization of a novel
high-affinity monoclonal antibody for
FLAG tag
第81回日本生化学会大会合同大会
2008年12月9日 神戸

Okuno 12(S)-Hydroxyheptadeca-5Z, 8E,
10E-trienoic acid is a natural ligand for

leukotriene B4 receptor 2
日本免疫学会
2008年12月2日 京都

Okazaki, H., Okuno, T., Yokomizo T.
Deficiency of leukotriene B4 receptors
affects tumor metastasis
The 2nd Global COE International Symposium
joint with the 18th Hot Spring Harbor
Symposium of Medical Institute of
Bioregulation
2008年11月9日福岡

奥野利明 ロイコトリエン B4 第二受容体
(BLT2)の生体内リガンドの同定
東京呼吸器リサーチフォーラム
2008年11月1日 東京

奥野利明 ロイコトリエンB4第二受容体BLT2
の生体内リガンドの同定特定領域
G蛋白質シグナル・班会議
2008年9月19日 越後湯沢

荒武良総、奥野利明、横溝岳彦、ロイコトリ
エンB4第一受容体BLT1の脱感作機構の解析、
特定領域
G蛋白質シグナル・班会議
2008年9月19日 越後湯沢

奥野利明 ロイコトリエン B4 第二受容体
(BLT2)の生体内リガンドはシクロオキシゲ
ナーゼ産物 12-HHT である
第2回GCOE理医連携リトリート
2008年8月10日 熊本

岡崎寛士、奥野利明、横溝岳彦
2つのLeukotrieneB4受容体と癌の転移・浸
潤
第2回GCOE理医連携リトリート
2008年8月9日 熊本

佐々木文之、小野原直哉、奥野利明、横溝岳
彦、高感度抗FLAGモノクローナル抗体の樹立、
第2回GCOE理医連携リトリート
2008年8月9日 熊本

荒武良総、奥野利明、横溝岳彦
Gタンパク質共役型受容体の脱感作と細胞内
移行の分子機序、第2回GCOE理医連携リトリ
ート
2008年8月9日 熊本

奥野利明 ロイコトリエン B4 第二受容体
(BLT2)の生体内リガンドは 12-HHT である
第50回日本脂質生化学会
2008年6月6日 徳島

奥野利明 ロイコトリエン B4 第二受容体
(BLT2)の生体内リガンドはシクロオキシゲ
ナーゼ産物 12-HHT である
日本生化学会九州支部例会
2008年5月18日 福岡

〔その他〕

ホームページ等

[http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/
details/K002948/research.html](http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/K002948/research.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奥野 利明 (OKUNO TOSHIAKI)

九州大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：60361466