

平成 22 年 6 月 8 日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20791058  
 研究課題名 (和文) 消化管ペプチドの骨代謝における役割の解明と骨粗鬆症治療への応用  
 研究課題名 (英文) Isolation and characterization of a novel peptide from gastrointestinal tract associated with osteoblast differentiation and bone formation

研究代表者 福嶋 信広  
 (Fukushima Nobuhiro)  
 久留米大学・医学部・助教  
 研究者番号：90412535

研究成果の概要 (和文)：消化管から分泌され、骨代謝、特に骨芽細胞に強力に作用するペプチドの分離・精製をおこない、その機能を解析した。まず、ラットの消化管からペプチド画分を抽出し、骨芽細胞に作用するペプチドを分離・精製し構造決定した。次に、分離・精製したペプチドを合成し、骨芽細胞に投与し骨芽細胞の細胞増殖、分化への作用を検討した。また、骨粗鬆症ラットモデルを作成しペプチドを投与し骨密度の変化を測定した。結果この新規ペプチドは骨芽細胞の分化を促進し骨密度を上昇させた。この研究にて同定した新規ペプチドは今後新たな骨粗鬆症治療剤の開発につながるものと考えられる。

研究成果の概要 (英文)：We discovered a novel peptide which is a positive regulator that acts directly on osteoblasts. This peptide directly promotes osteoblast differentiation *in vitro* and increases bone mineral density *in vivo*. The discovery of novel peptide may provide a new treatment option for osteoporosis and fracture healing.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1400000	420000	1820000
2009年度	800000	240000	1040000
年度			
年度			
年度			
総計	2200000	660000	2860000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：ペプチド、骨芽細胞、分化、骨密度、消化管

## 1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は現在 1000 万人の患者が存在するといわれている。しかも高齢者の増加と共にさらに骨粗鬆症の患者数も増加すると考えられる。このため、より健康的な社会の実現を図るうえから、骨粗鬆症の適切な治療法の確立は重要な社会的課題である。近年さまざま

な因子が骨代謝に重要な役割を有することが明らかになってきているが、いまだに不明な点も多くさらなる研究が必要である。近年骨代謝に関与する新たな因子は遺伝子レベルや細胞内レベルでの発見が多く臨床への応用が困難であることが多い。我々はペプチド探索という、臨床応用しやすい実験方

法を選択しているため、今回の研究により消化管ペプチドと骨代謝の関係が明確になったならば、二次性骨粗鬆症の成因に新たな見解を与えるだけでなく、骨粗鬆症の新たな治療薬の候補になると考える。また、現在の骨粗鬆症の治療は骨吸収を抑制する製剤が中心になっているが、骨質をさらに改善させるためには骨形成を促進させる製剤の開発が必要である。本研究は骨芽細胞をターゲットとしており、骨形成を誘導する新たな製剤の開発にもつながるものと考えている。

## 2. 研究の目的

消化管は生理活性ペプチドの主要な産生部位であり、それらのペプチドはエネルギー代謝と密接に関係している。しかし骨代謝との関係については十分に研究されていない。以前より、消化管で分泌され骨芽細胞に作用するペプチドホルモンの存在が推測されており、動物実験において胃酸分泌部の選択的切除により骨量減少が引き起こされることが報告されている。また胃粘膜の抽出物により骨芽細胞における細胞内Ca濃度の上昇が認められるという報告もある。しかし、いまだそのペプチドの分離・精製はされていない。したがって我々は骨芽細胞をターゲットとし、消化管から分泌される新規骨形成誘導因子の探索を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) ペプチドの探索

- ①ラットの消化管からペプチド抽出。
- ②各種クロマトグラフィーを用い分離。
- ③骨芽細胞に作用するペプチドを分離、精製。
- ④精製した sample をシーケンス、質量分析にて構造解析。
- ⑤得られたペプチドの生理作用を検討。

### (2) 生理作用の検討

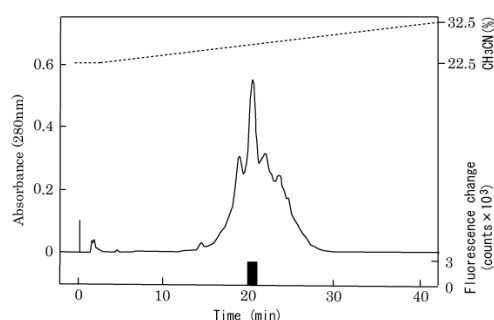
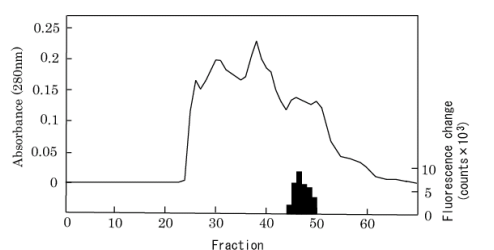
- ①骨芽細胞の細胞増殖への効果を検討。MTTやBrdUを用い骨芽細胞の細胞増殖への効果を検討する。
- ②骨芽細胞の分化、石灰化への効果の検討。骨芽細胞における分化マーカーの変化をreal-time PCRにて検討する。また石灰化アッセイを用い石灰化の検討を行う。
- ③ラットへの投与（8週間 皮内投与）を行い骨密度を検討。ラットは胃切除モデルを作成する。ペプチド投与は浸透圧ポンプを腹腔内に埋

め込み行う。

- 1) 骨量変化の検討：DEXA, pQCTにて測定する。
- 2) 骨形態計測による変化を検討する。
- 3) 血中骨代謝マーカーを測定する。

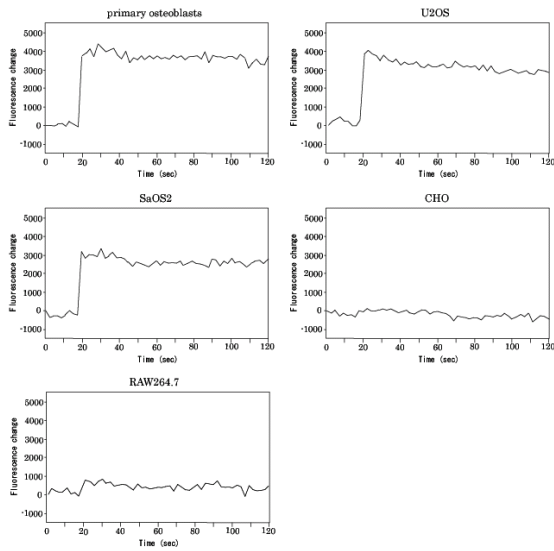
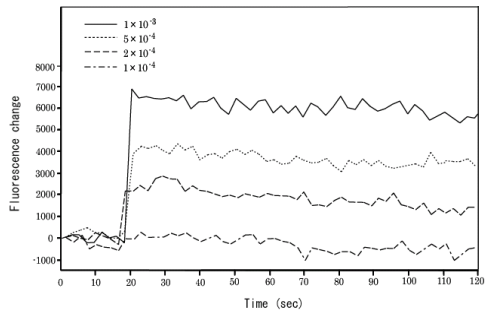
## 4. 研究成果

①ラットの胃からのペプチド抽出液から骨芽細胞内のカルシウム濃度を上昇させるペプチドを分離し、精製に成功した。結果、24アミノ酸配列のペプチドを同定した。質量分析の結果、ペプチドの質量は2763.4Daであった。

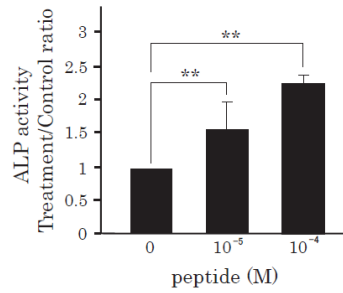
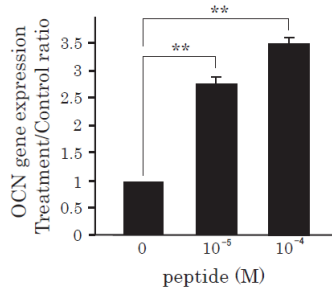
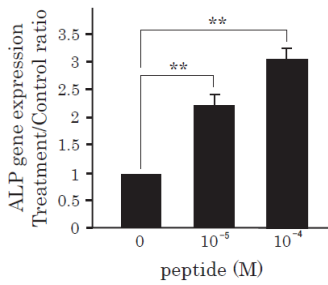


②分離精製した天然ペプチドとシーケンスの結果得られた配列を合成したペプチドとの比較を行い構造が一致していることが証明された。また骨芽細胞への作用においても、天然物と合成物との間に差を認めず、機能的にも一致していることを証明した。

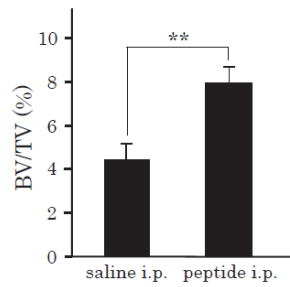
③ペプチド投与によって、ラットの骨芽細胞において濃度依存的な細胞内カルシウムの上昇をもたらすことを確認した。骨芽細胞以外の細胞においては細胞内カルシウム濃度の上昇は認めず、骨芽細胞に特異的に作用することを確認した。



④ペプチドの骨芽細胞へ生理作用を検討した結果、増殖には関係せず、骨芽細胞の分化を促進することを確認した。



⑤ラットへの投与によって骨密度を上昇させる作用があることを明らかにした。



## 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0件)

[学会発表] (計0件)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：骨芽細胞のカルシウム濃度を上昇させる機能を有するポリペプチド

発明者：福嶋信広、平岡弘二、永田見生

権利者：久留米大学

種類：2008-277253、PCT/JP2009/068512

出願年月日：2008/10/28

国内外の別：国内、外国

○取得状況 (計◇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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福嶋 信広 (Fukushima Nobuhiro)  
久留米大学・医学部・助教  
研究者番号：90412535

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：