

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

特発性大腿骨頭壊死症の予防と治療の
標準化を目的とした総合研究

平成19～20年度 総合研究報告書

平成21年3月

主任研究者 久保 俊一

報告書の [修正・差し替え] について

1名の研究分担者の除名のため、以下の通り修正しました。

文献番号：200834009B

課題番号：平成20年度 疾病・障害対策研究分野

研究事業名：難治性疾患克服研究

研究課題名：特発性大腿骨頭壊死症の予防と治療の標準化を目的とした総合研究

研究代表者：久保 俊一

【修正箇所】

新旧対照表の通り。

【修正理由】

平成19年度から遡って研究分担者から外れた者の関係する報告を削除したため。

年月日：平成30年5月23日

研究代表者 久保 俊一

新	旧	修正理由
<p style="text-align: center;">目 次</p> <p>1～4 (略)</p> <p>5. 分担研究報告</p> <p>A～B (略)</p> <p>C. 予防法の開発</p> <p> (予防Ⅰ) (略)</p> <p> (予防Ⅱ) 遺伝子解析サブグループ平成19～20年度総括 報告書 ……………</p> <p>サブグループリーダー：高橋謙治</p> <p> (1)～(5) (略)</p> <p><u>(削除)</u></p>	<p style="text-align: center;">目 次</p> <p>1～4 (略)</p> <p>5. 分担研究報告</p> <p>A～B (略)</p> <p>C. 予防法の開発</p> <p> (予防Ⅰ) (略)</p> <p> (予防Ⅱ) 遺伝子解析サブグループ平成19～20年度総括報 告書 ……………</p> <p>サブグループリーダー：高橋謙治</p> <p> (1)～(5) (略)</p> <p><u>(6) エストロゲンは破骨細胞内エストロゲン受容体α (ER α)を介した Fas リガンドの誘導により破骨細胞寿命を調節する 加藤茂明 1、2、今井祐記 1、高田伊知郎 1、松本高広 2、中村 貴 2</u></p> <p><u>(1 東京大学分子細胞生物学研究所、2 (独) 科学技術振興機構 (ERATO))</u></p> <p><u>(7) 破骨細胞分化系でのグルコルチコイド受容体 (GR) の機能制御メカニズムの解析</u> <u>加藤茂明 1、2、北川浩史 1</u></p> <p><u>(1 東京大学分子細胞生物学研究所、2 (独) 科学技術振興機構 (ERATO))</u></p>	<p>加藤茂明氏が平成19年度から遡って研究分担者から外れたため、関係する報告を削除。</p>

D (略)

研究成果の刊行に関する一覧

(略)

(削除)

D (略)

研究成果の刊行に関する一覧

(略)

分担研究者:加藤茂明

- ◆ Imai Y, Nakamura T, Matsumoto T, Takaoka K and Kato S. Molecular Mechanisms Underlying the Effects of Sex Steroids on Bone and Mineral Metabolism. J. Bone Miner. Metab. 2008 (in press).
- ◆ Imai Y, Kondoh S, Kouzmenko A, Kato S. Regulation of bone metabolism by nuclear receptors. Mol Cell Endocrinol 2008.
- ◆ Zhao Y, Lang G, Ito S, Bonnet J, Metzger E, Sawatsubashi S, et al. A TF1C/STAGA module mediates histone H2A and H2B deubiquitination, coactivates nuclear receptors, and counteracts heterochromatin silencing. Mol Cell 2008;29:92-101.
- ◆ Yukata K, Matsui Y, Shukunami C, Takimoto A, Goto T, Nishizaki Y, et al. Altered fracture callus formation in chondromodulin-I deficient mice. Bone 2008.
- ◆ Yokoyama A, Takezawa S, Schule R, Kitagawa H, Kato S. Transrepressive function of TLX requires the histone

	<p><u>demethylase LSD1. Mol Cell Biol 2008;28:3995-4003.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Yanase T, Fan W, Kyoya K, Min L, Takayanagi R, Kato S, et al. Androgens and metabolic syndrome: lessons from androgen receptor knock out (ARKO) mice. J Steroid Biochem Mol Biol 2008;109:254-7.</u> ♦ <u>Tanabe M, Kouzmenko AP, Ito S, Sawatsubashi S, Suzuki E, Fujiyama S, et al. Activation of facultatively silenced Drosophila loci associates with increased acetylation of histone H2AvD. Genes Cells 2008.</u> ♦ <u>Takaki H, Ichiyama K, Koga K, Chinen T, Takaesu G, Sugiyama Y, et al. STAT6 Inhibits TGF-beta1-mediated Foxp3 induction through direct binding to the Foxp3 promoter, which is reverted by retinoic acid receptor. J Biol Chem 2008;283:14955-62.</u> ♦ <u>Sasagawa S, Shimizu Y, Kami H, Takeuchi T, Mita S, Imada K, et al. Dienogest is a selective progesterone receptor agonist in transactivation analysis with potent oral endometrial activity due to its efficient pharmacokinetic profile. Steroids 2008;73:222-31.</u> ♦ <u>Okada M, Takezawa S, Mezaki Y, Yamaoka I, Takada I, Kitagawa H, et al. Switching of chromatin-remodelling complexes for oestrogen receptor-alpha. EMBO Rep 2008;9:563-8.</u> ♦ <u>Ohtake F, Fujii-Kuriyama Y, Kato S. AhR acts as an E3 ubiquitin ligase to modulate steroid receptor functions. Biochem Pharmacol 2008.</u> 	
--	--	--

- ♦ Ohtake F, Baba A, Fujii-Kuriyama Y, Kato S. Intrinsic AhR function underlies cross-talk of dioxins with sex hormone signalings. Biochem Biophys Res Commun 2008;370:541-6.
- ♦ Murata T, Suzuki E, Ito S, Sawatsubashi S, Zhao Y, Yamagata K, et al. RNA-binding protein hoip accelerates polyQ-induced neurodegeneration in Drosophila. Biosci Biotechnol Biochem 2008;72:2255-61.
- ♦ Matsumoto T, Shiina H, Kawano H, Sato T, Kato S. Androgen receptor functions in male and female physiology. J Steroid Biochem Mol Biol 2008;109:236-41.
- ♦ Kouzu-Fujita M, Mezaki Y, Sawatsubashi S, Matsumoto T, Yamaoka I, Yano T, et al. Co-activation of ER{beta} by a gonadotropin-induced cofactor GIOT-4. Mol Cell Biol 2008.
- ♦ Kouzmenko AP, Takeyama K, Kawasaki Y, Akiyama T, Kato S. Ligand-dependent interaction between estrogen receptor alpha and adenomatous polyposis coli. Genes Cells 2008;13:723-30.
- ♦ Kimura S, Sawatsubashi S, Ito S, Kouzmenko A, Suzuki E, Zhao Y, et al. Drosophila arginine methyltransferase 1 (DART1) is an ecdysone receptor co-repressor. Biochem Biophys Res Commun 2008;371:889-93.
- ♦ Iriyama A, Fujiki R, Inoue Y, Takahashi H, Tamaki Y, Takezawa S, et al. A2E, a pigment of the lipofuscin of retinal pigment epithelial cells, is an endogenous ligand for retinoic acid

	<p><u>receptor. J Biol Chem 2008;283:11947-53.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Honzawa S, Yamamoto Y, Yamashita A, Sugiura T, Kurihara M, Arai MA, et al. The 2alpha-(3-hydroxypropyl) group as an active motif in vitamin D3 analogues as agonists of the mutant vitamin D receptor (Arg274Leu). Bioorg Med Chem 2008;16:3002-24.</u> ♦ <u>Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, Maeda T, Osanai M, Uchiyama Y, et al. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. Mol Biol Cell 2008;19:1912-21.</u> ♦ <u>Fan W, Yanase T, Nishi Y, Chiba S, Okabe T, Nomura M, et al. Functional potentiation of leptin-signal transducer and activator of transcription 3 signaling by the androgen receptor. Endocrinology 2008;149:6028-36.</u> ♦ <u>Asagiri M, Hirai T, Kunigami T, Kamano S, Gober HJ, Okamoto K, et al. Cathepsin K-dependent toll-like receptor 9 signaling revealed in experimental arthritis. Science 2008;319:624-7.</u> ♦ <u>Akimoto C, Kitagawa H, Matsumoto T, Kato S. Spermatogenesis-specific association of SMCY and MSH5. Genes Cells 2008;13:623-33.</u> ♦ <u>Aihara, K., Azuma, H., Akaike, M., Ikeda, Y., Sata, M., Takamori, N., Yagi, S., Iwase, T., Sumitomo, Y., Kawano, H., Yamada, T., Fukuda, T., Matsumoto, T., Sekine, K., Sato, T., Nakamichi, Y., Yamamoto, Y., Yoshimura, K., Watanabe, T.,</u> 	
--	--	--

	<p><u>Nakamura, T., Oomizu, A., Tsukada, M., Hayashi, H., Sudo, T., Kato, S. and Matsumoto, T., 'Strain-dependent embryonic lethality and exaggerated vascular remodeling in heparin cofactor II-deficient mice'. J Clin Invest, 2007, 117 (6):1514-1526.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Arai, M.A., Takeyama, K., Ito, S., Kato, S., Chen, T.C. and Kittaka, A., 'High-throughput system for analyzing ligand-induced cofactor recruitment by vitamin D receptor'. Bioconjug Chem, 2007, 18 (3):614-620.</u> ♦ <u>Fan, W., Yanase, T., Morinaga, H., Okabe, T., Nomura, M., Daitoku, H., Fukamizu, A., Kato, S., Takayanagi, R. and Nawata, H., 'Insulin-like growth factor 1/insulin signaling activates androgen signaling through direct interactions of Foxo1 with androgen receptor'. J Biol Chem, 2007, 282 (10):7329-7338.</u> ♦ <u>Fukuda, T., Yamagata, K., Fujiyama, S., Matsumoto, T., Koshida, I., Yoshimura, K., Mihara, M., Naitou, M., Endoh, H., Nakamura, T., Akimoto, C., Yamamoto, Y., Katagiri, T., Foulds, C., Takezawa, S., Kitagawa, H., Takeyama, K., O'Malley, B.W. and Kato, S., 'DEAD-box RNA helicase subunits of the Drosha complex are required for processing of rRNA and a subset of microRNAs'. Nat Cell Biol, 2007, 9 (5):604-611.</u> ♦ <u>Fuse, H., Korenaga, S., Sakari, M., Hiyama, T., Ito, T., Kimura, K. and Kato, S., 'Non-steroidal antiandrogens act as AF-1</u> 	
--	--	--

	<p><u>agonists under conditions of high androgen-receptor expression</u>'. <i>Prostate</i>, 2007, 67 (6):630-637.</p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K.A., Arai, Y., Asano, T., Ishida, M., Kuribayashi, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Fukushima, W., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S. and Kubo, T., 'ApoB C7623T polymorphism predicts risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplantation</u>'. <i>J Orthop Sci</i>, 2007, 12 (3):199-206. ♦ <u>Hirata, T., Fujioka, M., Takahashi, K.A., Asano, T., Ishida, M., Akioka, K., Okamoto, M., Yoshimura, N., Satomi, Y., Nishino, H., Hirota, Y., Nakajima, S., Kato, S. and Kubo, T., 'Low molecular weight phenotype of Apo(a) is a risk factor of corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head after renal transplant</u>'. <i>J Rheumatol</i>, 2007, 34 (3):516-522. ♦ <u>Igarashi, M., Yogiashi, Y., Mihara, M., Takada, I., Kitagawa, H. and Kato, S., 'Vitamin K induces osteoblast differentiation through pregnane X receptor-mediated transcriptional control of the Msx2 gene</u>'. <i>Mol Cell Biol</i>, 2007, 27 (22):7947-7954. ♦ <u>Indra, A.K., Castaneda, E., Antal, M.C., Jiang, M., Messaddeq, N., Meng, X., Loehr, C.V., Gariglio, P., Kato, S., Wahli, W., Desvergne, B., Metzger, D. and Chambon, P., 'Malignant transformation of DMBA/TPA-induced papillomas and nevi in</u> 	
--	---	--

	<p><u>the skin of mice selectively lacking retinoid-X-receptor alpha in epidermal keratinocytes'. J Invest Dermatol, 2007, 127 (5):1250-1260.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Kato, S., Fujiki, R., Kim, M.S. and Kitagawa, H., 'Ligand-induced transrepressive function of VDR requires a chromatin remodeling complex, WINAC'. J Steroid Biochem Mol Biol, 2007, 103 (3-5):372-380.</u> ♦ <u>Kato, S., Kim, M.S., Yamaoka, K. and Fujiki, R., 'Mechanisms of transcriptional repression by 1,25(OH)₂ vitamin D'. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2007, 16 (4):297-304.</u> ♦ <u>Kim, M.S., Fujiki, R., Kitagawa, H. and Kato, S., '1alpha,25(OH)₂D₃-induced DNA methylation suppresses the human CYP27B1 gene'. Mol Cell Endocrinol, 2007, 265-266:168-173.</u> ♦ <u>Kim, M.S., Fujiki, R., Murayama, A., Kitagawa, H., Yamaoka, K., Yamamoto, Y., Mihara, M., Takeyama, K. and Kato, S., '1Alpha,25(OH)₂D₃-induced transrepression by vitamin D receptor through E-box-type elements in the human parathyroid hormone gene promoter'. Mol Endocrinol, 2007, 21 (2):334-342.</u> ♦ <u>Kimura, S., Matsumoto, T., Matsuyama, R., Shiina, H., Sato, T., Takeyama, K. and Kato, S., 'Androgen receptor function in folliculogenesis and its clinical implication in premature ovarian failure'. Trends Endocrinol Metab, 2007, 18 (5):183-189.</u> 	
--	--	--

- | | | |
|--|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none">♦ <u>Kitagawa, H., Ray, W.J., Glantschnig, H., Nantermet, P.V., Yu, Y., Leu, C.T., Harada, S., Kato, S. and Freedman, L.P., 'A regulatory circuit mediating convergence between Nurrl transcriptional regulation and Wnt signaling'. Mol Cell Biol, 2007, 27 (21):7486-7496.</u>♦ <u>Kitagawa, H., Yamaoka, I., Akimoto, C., Kase, I., Mezaki, Y., Shimizu, T. and Kato, S., 'A reduction state potentiates the glucocorticoid response through receptor protein stabilization'. Genes Cells, 2007, 12 (11):1281-1287.</u>♦ <u>Kittaka, A., Saito, N., Honzawa, S., Takenouchi, K., Ishizuka, S., Chen, T.C., Peleg, S., Kato, S. and Arai, M.A., 'Creative synthesis of novel vitamin D analogs for health and disease'. J Steroid Biochem Mol Biol, 2007, 103 (3-5):269-276.</u>♦ <u>Mezaki, Y., Yoshikawa, K., Yamaguchi, N., Miura, M., Imai, K., Kato, S. and Senoo, H., 'Rat hepatic stellate cells acquire retinoid responsiveness after activation in vitro by post-transcriptional regulation of retinoic acid receptor alpha gene expression'. Arch Biochem Biophys, 2007, 465 (2):370-379.</u>♦ <u>Miyamoto, J., Matsumoto, T., Shiina, H., Inoue, K., Takada, I., Ito, S., Itoh, J., Minematsu, T., Sato, T., Yanase, T., Nawata, H., Osamura, Y.R. and Kato, S., 'The pituitary function of androgen receptor constitutes a glucocorticoid production</u> | |
|--|--|--|

circuit'. Mol Cell Biol, 2007, 27 (13):4807-4814.

- ♦ Mukai, H., Tsurugizawa, T., Murakami, G., Kominami, S., Ishii, H., Ogiue-Ikeda, M., Takata, N., Tanabe, N., Furukawa, A., Hojo, Y., Ooishi, Y., Morrison, J.H., Janssen, W.G., Rose, J.A., Chambon, P., Kato, S., Izumi, S., Yamazaki, T., Kimoto, T. and Kawato, S., 'Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons'. J Neurochem, 2007, 100 (4):950-967.
- ♦ Nakamura, T., Imai, Y., Matsumoto, T., Sato, S., Takeuchi, K., Igarashi, K., Harada, Y., Azuma, Y., Krust, A., Yamamoto, Y., Nishina, H., Takeda, S., Takayanagi, H., Metzger, D., Kanno, J., Takaoka, K., Martin, T.J., Chambon, P. and Kato, S., 'Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts'. Cell, 2007, 130 (5):811-823.
- ♦ Ohtake, F., Baba, A., Takada, I., Okada, M., Iwasaki, K., Miki, H., Takahashi, S., Kouzmenko, A., Nohara, K., Chiba, T., Fujii-Kuriyama, Y. and Kato, S., 'Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase'. Nature, 2007, 446 (7135):562-566.
- ♦ Sato, S., Hanada, R., Kimura, A., Abe, T., Matsumoto, T., Iwasaki, M., Inose, H., Ida, T., Mieda, M., Takeuchi, Y., Fukumoto, S., Fujita, T., Kato, S., Kangawa, K., Kojima, M., Shinomiya, K. and Takeda, S., 'Central control of bone

	<p><u>remodeling by neuromedin U</u>. <u>Nat Med, 2007, 13 (10):1234-1240.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Takada, I., Mihara, M., Suzawa, M., Ohtake, F., Kobayashi, S., Igarashi, M., Youn, M.Y., Takeyama, K., Nakamura, T., Mezaki, Y., Takezawa, S., Yogiashi, Y., Kitagawa, H., Yamada, G., Takada, S., Minami, Y., Shibuya, H., Matsumoto, K. and Kato, S., 'A histone lysine methyltransferase activated by non-canonical Wnt signalling suppresses PPAR-gamma transactivation</u>'. <u>Nat Cell Biol, 2007, 9 (11):1273-1285.</u> ♦ <u>Takada, I., Suzawa, M., Matsumoto, K. and Kato, S., 'Suppression of PPAR-{gamma} transactivation switches cell fate of bone marrow stem cells from adipocytes into osteoblasts</u>'. <u>Ann N Y Acad Sci, 2007.</u> ♦ <u>Takeyama, K., Yamamoto, Y. and Kato, S., '[VDR knockout mice and bone mineralization disorders]</u>'. <u>Clin Calcium, 2007, 17 (10):1560-1566.</u> ♦ <u>Takezawa, S., Yokoyama, A., Okada, M., Fujiki, R., Iriyama, A., Yanagi, Y., Ito, H., Takada, I., Kishimoto, M., Miyajima, A., Takeyama, K., Umesono, K., Kitagawa, H. and Kato, S., 'A cell cycle-dependent co-repressor mediates photoreceptor cell-specific nuclear receptor function</u>'. <u>Embo J, 2007, 26 (3):764-774.</u> ♦ <u>Urushino, N., Nakabayashi, S., Arai, M.A., Kittaka, A., Chen,</u> 	
--	--	--

	<p><u>T.C., Yamamoto, K., Hayashi, K., Kato, S., Ohta, M., Kamakura, M., Ikushiro, S. and Sakaki, T., 'Kinetic studies of 25-hydroxy-19-nor-vitamin D3 and 1 alpha,25-dihydroxy-19-nor-vitamin D3 hydroxylation by CYP27B1 and CYP24A1'. Drug Metab Dispos, 2007, 35 (9):1482-1488.</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ♦ <u>Yamaoka, K., Shindo, M., Iwasaki, K., Yamaoka, I., Yamamoto, Y., Kitagawa, H. and Kato, S., 'Multiple co-activator complexes support ligand-induced transactivation function of VDR'. Arch Biochem Biophys, 2007, 460 (2):166-171.</u> ♦ <u>Yokota, K., Shibata, H., Kurihara, I., Kobayashi, S., Suda, N., Murai-Takeda, A., Saito, I., Kitagawa, H., Kato, S., Saruta, T. and Itoh, H., 'Coactivation of the N-terminal transactivation of mineralocorticoid receptor by Ubc9'. J Biol Chem, 2007, 282 (3):1998-2010.</u> ♦ <u>Takeyama K, Kato S. [Signal transduction mechanisms of steroid hormone receptors]. Nippon Rinsho 2008;66:47-54.</u> ♦ <u>Imai Y, Kondoh S, Kato S. [Mechanotransduction via estrogen receptors in bone]. Clin Calcium 2008;18:1272-7.</u> ♦ <u>Kato S. [Function of nuclear receptors in bone remodeling and formation]. Tanpakushitsu Kakusan Koso 2008;53:854-62.</u> ♦ <u>Kato S, Fujiki R. [Molecular biology of nuclear steroid receptor]. Nippon Rinsho 2008;66:2-6.</u> 	
--	---	--

<p>(略)</p> <p>(予防Ⅱ) 遺伝子解析サブグループ平成19～20年度総括報告書</p> <p>サブグループリーダー：高橋謙治（京都府立医大大学院医学研究科 運動器機能再生外科学）</p> <p>1. 研究目的</p> <p>特発性大腿骨頭壊死症（ION）の誘因別ではステロイド関連が過半数を占めている。この現状を受け、ステロイド投与に関連したIONの発生を予測し、さらに予防することを目標とする。他の薬剤と同様に、ステロイドの薬剤感受性には個人差が存在する。本サブグループでは、ステロイド性IONの遺伝的素因と発生のメカニズムを解明する目的で、ステロイドホルモンの作用発現に関与する遺伝子（群）と大腿骨頭壊死症そのものの</p>	<ul style="list-style-type: none"> ◆ Takada I, Kato S. [Gene regulation by steroid receptors]. Nippon Rinsho 2008;66:65-9. ◆ Takada I, Kato S. [Molecular mechanism of switching adipocyte / osteoblast differentiation through regulation of PPAR-gamma function.]. Clin Calcium 2008;18:656-61. <p>(略)</p> <p>(予防Ⅱ) 遺伝子解析サブグループ平成19～20年度総括報告書</p> <p>サブグループリーダー：高橋謙治（京都府立医大大学院医学研究科 運動器機能再生外科学）</p> <p>1. 研究目的</p> <p>特発性大腿骨頭壊死症（ION）の誘因別ではステロイド関連が過半数を占めている。この現状を受け、ステロイド投与に関連したIONの発生を予測し、さらに予防することを目標とする。他の薬剤と同様に、ステロイドの薬剤感受性には個人差が存在する。本サブグループでは、ステロイド性IONの遺伝的素因と発生のメカニズムを解明する目的で、ステロイドホルモンの作用発現に関与する遺伝子（群）と大腿骨頭壊死症そのものの発生に関与する遺伝子（群）について検討した。</p>	
---	---	--

発生に関与する遺伝子（群）について検討した。ION の疾患感受性の患者個体差を判定する方法を確立する目的でステロイド代謝酵素の活性測定方法の確立を行った。遺伝的因子の検討としてゲノム遺伝子を用いた single nucleotide polymorphism (SNP)解析を行った。

2. 研究方法

ステロイド代謝に深く関与している肝臓での CYP3A 活性とステロイド性 ION 発生の関連の解析を高岡が、大腿骨頭壊死症そのものの発生に関与する様々な因子の遺伝子多型とステロイド性 ION 発生の関連の解析を藤岡と高橋が行った。

ステロイドホルモンの作用発現に関与する因子そのものの基礎的検索を行った。また、ION の疾患感受性の患者個体差を判定する方法を確立する目的でステロイド代謝酵素の活性測定方法の確立を行った。遺伝的因子の検討としてゲノム遺伝子を用いた single nucleotide polymorphism (SNP)解析を行った。

2. 研究方法

ステロイドホルモンの作用発現に関与する因子そのものの基礎的検索を加藤が、ステロイド代謝に深く関与している肝臓での CYP3A 活性とステロイド性 ION 発生の関連の解析を高岡が、大腿骨頭壊死症そのものの発生に関与する様々な因子の遺伝子多型とステロイド性 ION 発生の関連の解析を藤岡と高橋が行った。

(1) ステロイドホルモンの機能発現機序(加藤茂明)

① 酸化還元刺激によるグルココルチコイドレセプターの転写制御メカニズムの解析

グルココルチコイドレセプター (GR) には GRE (consensus GRE 系)、AP-1RE (AP1 転写系)、NF-kBRE (NF-kB 転写系) という 3 つの主要な転写活性制御系が存在する。そのそれぞれを使用したレポーターアッセイを行い、酸化還元刺激によるリガンド依存性の GR 転写制御の変動を検索した。次に、酸化・還元制御による転写制御メカニズムを検討した。転写共役因子のプロモーター上での挙動との関連も解析した。

② 細胞内での GR の機能制御メカニズム

<p>(1)～(2) (略)</p> <p>(倫理面への配慮) (略)</p> <p>3. 研究結果及び考察</p>	<p><u>グルココルチコイドは核内受容体の一つであるグルココルチコイドレセプター(GR)を介してその生理機能が発揮されるが、その制御メカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで、GR の転写制御メカニズムを解明することにより大腿骨頭壊死の病態を明らかにする糸口を探すことを試みる。内在性に GR が発現しているマクロファージ由来 Raw 264.7 細胞を用いて、内在性 GR 結合因子の同定と機能解析を行った。</u></p> <p><u>③ 破骨細胞におけるエストロゲン受容体機能の解析</u></p> <p><u>破骨細胞による骨吸収の亢進が ION における骨頭の圧潰を助長することが予想される。破骨細胞特異的エストロゲン受容体(ER)α ノックアウトマウス(OcERα KO)は雌にのみ高骨代謝回転型の骨粗鬆症を発生することを報告しているが、今回はこの分子メカニズムを、マイクロアレイ法・定量的 RT-PCR 法・骨形態計測法・骨密度測定などを用いて解析した。</u></p> <p>(2)～(3) (略)</p> <p>(倫理面への配慮) (略)</p> <p>3. 研究結果及び考察</p> <p>(1) <u>ステロイドホルモンの機能発現機序の解析</u></p> <p><u>① 酸化還元刺激によるグルココルチコイドレセプターの転写制御メカニズムの解析</u></p> <p><u>酸化刺激(H₂O₂ 添加)と還元刺激(CoCl₂ 添加)による GR の転写活性の変動の解析では、酸化刺激により GR の転写活性は低下し、還</u></p>	
---	--	--

元刺激により活性は上昇することが明らかとなった。その機序として酸化刺激により核内 GR の量が減少することが判明した。還元刺激では GR の核外移行をともなわず、GR タンパク量のリガンド依存性の低下が認められなくなった。この GR タンパク量の安定はタンパク分解阻害による可能性が高いと考えられた。さらに、この GR のタンパク安定によってプロモーター上における GR の転写共役因子群の安定化が明らかとなった。

② 細胞内での GR の機能制御メカニズム

GR 抗体カラムを作成し、実際に内在性の GR の結合を確認した。Raw 264.7 細胞に炎症刺激とリガンド(Dexamethasone)を投与し、細胞質画分と核画分に分けたのち、GR 結合因子の同定を行った。いくつかの取得因子は GR のリガンド依存性、非依存性の分解を制御していることが明らかになった。

③ 破骨細胞におけるエストロゲン受容体機能の解析

OcER α KO マウス群および対照群に卵巣摘出(OVX)を施行し、17 β エストラジオール(E2)による補充療法を行った結果、対照群でのみ補充効果による骨量の回復を認めた。また同様に脊椎海綿骨を用いた骨形態計測においては、E2 を投与した対照群でのみ破骨細胞数の減少を認めた。そこで、E2 により変動する遺伝子発現を GeneChip 解析にて検索したところ Fas Ligand(FasL)の発現変動を OcER α KO 特異的に認めた。また E2 投与後 TUNEL/TRAP 陽性を示す多核巨細胞を対照群に多く認めた。さらに、骨髄由来細胞を用いた初代培養では、対照群由来破骨細胞でのみ E2 及び Tamoxifen(Tam)投与

(1) ~ (2) (略)

4. 評価

1) 達成度について(略)

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

各々の研究成果は国内外の学会で発表され、また英文学術雑誌に掲載あるいは投稿中である。遺伝子多型解析および肝臓 CYP3A 活性が ION 発生リスクの予想に応用できれば、近年増加しつつあるステロイド性 ION の予防法の確立に大きく寄与すると考える。

による FasL 遺伝子発現の上昇および TUNEL 陽性細胞の有意な上昇を認めた。この破骨細胞の E2 投与によるアポトーシスの誘導が実際に FasL を介しているかを確認するために、機能的な FasL を発現することができない変異マウス (FasLgld/gld) に OVX を施行したところ、OVX による骨量減少を認めなかった。また FasLgld/gld から採取した初代骨髄細胞由来破骨細胞培養では、E2 投与によるアポトーシスの誘導を認めなかった。OcER α KO の海綿骨組織における ER α の機能解析では、破骨細胞内でリガンドと結合した ER α は FasL 遺伝子発現を上昇させて破骨細胞の Apoptosis を誘導し、破骨細胞寿命を調節していることが明らかとなった。

(2) ~ (3) (略)

4. 評価

1) 達成度について(略)

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

各々の研究成果は国内外の学会で発表され、また英文学術雑誌に掲載あるいは投稿中である。加藤らの核内受容体の機能解析や骨代謝への関与に関する研究成果は世界のトップレベルのものである。この分野の研究の発展に広く寄与している。遺伝子多型解析および肝臓 CYP3A 活性が ION 発生リスクの予想に応用できれば、近年増加しつつあるステロイド性 ION の予防法の確立に大きく寄与すると考え

3) 今後の展望について (略)

4) 研究内容の効率性について

現在のところ、直接に患者を対象とした検討は主として大阪市立大学整形外科教室および京都府立医科大学運動器機能再生外科学で、それぞれ重複なく分担して行っており、極めて効率的であると考ええる。

5. 結論

肝臓 CYP3A 活性が臨床研究と同様に動物実験においても骨壊死の発生に関与していることが示された。CYP3A 活性の簡便な測定法を考案し、ステロイド投与量のテーラーメイド化へ前進した。ステロイド性 ION の発生に関連する遺伝子多型解析では、既報の ABCB1 遺伝子、CBP 遺伝子および ApoB 遺伝子に加え、新たな遺伝子を見出すことはできず、引き続き解析を行う。

る。

3) 今後の展望について(略)

4) 研究内容の効率性について

現在のところ、基礎研究は主として東京大学分子細胞生物学研究所で、直接に患者を対象とした検討は主として大阪市立大学整形外科教室および京都府立医科大学運動器機能再生外科学で、それぞれ重複なく分担して行っており、極めて効率的であると考ええる。

5. 結論

エストロゲンは破骨細胞内エストロゲン受容体 α (ER α) を介した Fas リガンドの誘導により破骨細胞寿命を調節することを明らかにした。さらに、酸化還元刺激による GR 転写制御メカニズムの存在を明らかにし、その制御メカニズムに GR タンパクの分解制御が関与している可能性を示した。肝臓 CYP3A 活性が臨床研究と同様に動物実験においても骨壊死の発生に関与していることが示された。CYP3A 活性の簡便な測定法を考案し、ステロイド投与量のテーラーメイド化へ前進した。ステロイド性 ION の発生に関連する遺伝子多型解析では、既報の ABCB1 遺伝子、CBP 遺伝子および ApoB 遺伝子に加え、新たな遺伝子を見出すことはできず、引き続き解析を行う。