

氏名	阿部 理恵
学位の種類	博 士 (農学)
学位記番号	博 甲 第 7767 号
学位授与年月日	平成 28年 3月 25日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	OGR1 における新規アゴニスト金属と破骨細胞機能に関する研究

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学教授	農学博士	馬場 忠
副査	筑波大学准教授	博士 (薬学)	木村 圭志
副査	筑波大学講師	博士 (農学)	石田 純治

論 文 の 要 旨

G-protein coupled receptor (GPCR) は上市されている薬の作用点の 30%を占めるとも言われており、創薬の標的として極めて重要な存在であるが、未だリガンド未知なオーファン GPCR や機能未知な GPCR が多く存在している。著者は、本研究においてこのような GPCR の中に新規作用機序を有する創薬の標的が存在すると想定し、Ovarian cancer G-protein coupled receptor (OGR1) の創薬標的としての可能性を検討した。

OGR1 は当初 D-SPC がリガンドであるという報告があったが、再現性が得られなかったことから、オーファン GPCR として解析を行った。その後、プロトンがリガンドであるとの報告がされ、本論文の検討においても再現性が得られたが、より生理的な中性領域の pH において OGR1 に作用するリガンド及びアゴニストが存在する可能性を想定してリガンドスクリーニングを実施した。

その結果、酸性を示さない ST-2 骨芽細胞培養上清及びブタ膵臓抽出サンプルにおいて OGR1 に対するアゴニスト活性を見出した。さらに、これらのサンプルの精製を行い OGR1 アゴニスト活性物質として複数の金属 (Fe、Zn、Co、Ni 及び Mn) を同定し、これら金属の活性の比較及び濃度依存性を確認した。また、低 pH 刺激による活性を持たない OGR1 不活性変異体においてアゴニスト金属によるシグナルも抑制されたことから、アゴニスト金属による活性はプロトンと同じ His 残基を介していることが示唆された。さらに、Ni を用いて独自のアンタゴニストスクリーニングを実施し、OGR1 アンタゴニスト化合物を取得した。

発現解析により、**OGR1** の発現が破骨細胞の分化に伴い顕著に上昇することを見出した。さらに、**OGR1** ノックアウト (KO) マウス由来破骨細胞においてアゴニスト金属による活性が抑制されたことから、内在的な **OGR1** を介しシグナルが伝達されることが示された。このことより、**OGR1** は破骨細胞の機能において重要な役割を持つことが示唆された。そこで、**OGR1** の破骨細胞での機能、及び骨疾患形成における関与の可能性を調べるため、**OGR1** KO マウス由来破骨細胞を用いた解析を実施した。その結果、**OGR1** を介した低 pH 刺激により、破骨細胞の分化が促進されること、また破骨細胞の生存が促進されることが示された。一方で、**OGR1** アゴニスト金属による作用は明確には確認できなかった。

さらに、**OGR1** KO マウスの骨組織における基礎解析、及び各種骨疾患モデルにおける検討を行った。基礎解析において、骨形態計測の結果では骨の成長が変化している可能性が示された。また、各種骨疾患モデルにおける検討では **OVX** 骨粗鬆症モデル及び関節炎モデルにおいて **OGR1** の関与が示唆されたが、その作用は比較的弱いものであった。また、行動解析では **Rotarod test**、**Grip strength test** において KO マウスで僅かに抑制の傾向が見られた。

これらの結果より、**OGR1** は破骨細胞に発現し、破骨細胞の形成及び生存に関与すること、また骨の成長や骨疾患にも関与することが示唆された。しかしながら、その寄与はそれほど顕著ではないため骨疾患の創薬標的とするには不十分であると考えられた。

審 査 の 要 旨

新たな創薬標的の疾患への関与を検討することは、新薬の創出に不可欠である。その中でも特に **GPCR** は創薬の標的として極めて重要な存在であるが、リガンドが未知の場合や、疾患との関連付けが十分に検討されていない **GPCR** も数多い。

本研究において、**OGR1** アゴニスト活性物質として複数の金属 (Fe、Zn、Co、Ni 及び Mn) を同定したが、これは新規の知見である。また、破骨細胞に内在性に発現する **OGR1** を介してこれらの金属が細胞内シグナルを流すことも新規の知見である。また、これまでに、本研究で実施した各種骨疾患モデルにおける詳細に検証した報告がない。検討の結果、**OGR1** は骨疾患モデルにおける寄与はそれほど大きくなく、骨疾患の創薬標的とするには不十分であると考えられたが、新薬の創出過程では既存薬との差別化や併用時のメリットを確認する必要があるため、本研究で得られた結果も重要な情報となる。

以上のように、本研究では破骨細胞に着目して研究が実施されたが、**OGR1** は他の細胞でも発現し機能している報告があることから、新規に見出された **OGR1** アゴニスト金属、及び新規スクリーニング系から見出した低分子アンタゴニストを用いて、これらの細胞の機能を調節できる可能性がある。将来的には、これらの知見を生かし他の疾患における創薬への応用が期待される。

平成 28 年 1 月 18 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。