

平成 30 年 5 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15665

研究課題名(和文)カルシウム恒常性メカノレギュラトリー理論の構築と応用

研究課題名(英文)Calcium homeostasis regulation by intestinal mechano-stress sensor

研究代表者

丸山 健太 (Maruyama, Kenta)

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任助教(常勤)

研究者番号：60724119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、近年発見されたメカノストレスセンサーX(未公開)が腸管に発現していることを示唆する知見を得た。腸管特異的にメカノストレスセンサーXを欠損させたマウスを作出したところ、骨量が野生型コントロールマウスを比較して顕著に増加していた。このことは、腸管メカノストレスセンサーXによる腸-骨連関の存在を示唆しており、現在その詳細な分子メカニズムの解明をすすめているところである。

研究成果の概要(英文)：The mechano-stress sensor X (alias) is expressed in intestinal epithelium. Deletion of mechano-stress sensor X in the intestinal epithelium leads to increased bone volume. This result suggests that intestinal mechano-stress sensor activation suppresses bone formation. The novel gut-bone homeostasis machinery is now under investigation.

研究分野：骨代謝学

キーワード：骨代謝 メカノストレス

1. 研究開始当初の背景

現代の老年医療において切望されているカルシウム吸収促進剤

日本人の食生活は終戦後より欧米化の一途を辿り、結果としてそれまで不足していた各種ビタミン・ミネラルの所要量充足率は大幅に改善した。しかし、カルシウム摂取量だけは今日においてもなお不足しており、骨折予防を目的とした乳製品や骨ごと調理した魚介類の摂取が奨励されている。残念なことに、老年医療の現場ではこうした食生活の改善指導が骨密度増加につながっておらず、カルシウム吸収を促進する薬剤の開発は重要である。腸上皮のカルシウム吸収経路としては既に TRPV6 イオンチャネルが報告されているが (Bianco et al, JBMR 2007)、当該遺伝子欠損マウスの骨粗鬆症は比較的マイルドであり、新薬開発の為のより本質的なカルシウム吸収経路の同定が望まれていた。

機械応答性カルシウム透過イオンチャネルであるメカノストレスセンサーX の発見(未公開)

近年、永らく不明であった機械刺激に応答して活性化するカルシウム透過イオンチャネルとしてメカノストレスセンサーX タンパク質が同定された(未公開)。また最近、X 線結晶構造解析によって当該分子が多量体を形成していることが明らかにされ、メカノストレスセンサーX は痛覚生理学領域において世界中の科学者から熱い視線を注がれている。

2. 研究の目的

空前絶後の高齢化を迎えた本邦において、骨粗鬆症やそれに伴う骨折の予防は喫緊の課

題である。申請者は高齢者の骨折予防を目的にカルシウム摂取量を高めるための食事指導を長年にわたって実践しているが、残念ながらこうした心理学的アプローチのみで骨密度増加が検出される患者は存在しない。このことは、加齢に伴い腸管からのカルシウム吸収量が著明に減少することを反映していると考えられ、カルシウム吸収促進剤の開発が切望されている。近年、メカノストレスセンサーX(未公開)が機械刺激や圧刺激を感知するメカノセンサーの分子実態であることが証明された。申請者の予備的な検討では、メカノストレスセンサーX はマウス腸管上皮においても発現していた。そこで本研究では、メカノストレスセンサーX が腸管からのカルシウム吸収を担っているとする作業仮説をマウス遺伝学によって検証し、腸管カルシウム吸収調節の新たなパラダイム創成を目指した。

3. 研究の方法

腸上皮におけるメカノストレスセンサーX の機能を調べるため、メカノストレスセンサーX floxed マウスと腸管上皮特異的 Cre である VillinCre TG マウスとを交配させることで腸上皮特異的メカノストレスセンサーX 欠損マウスを作成し、当該マウスの内分泌・骨代謝学的解析を実施することで、メカノストレスセンサーX が腸管におけるカルシウム吸収門戸として機能している可能性を検証する。さらに、ミエロイド細胞系譜特異的メカノストレスセンサーX 欠損マウス、骨芽細胞特異的メカノストレスセンサーX 欠損マウスを作成して骨代謝学解析を加えることで、腸吸収と骨代謝の連携機構によって維持されているカルシウムホメオスタシスにおいてメカノストレスセンサーX が果たしている役割の全貌を解明する。

4. 研究成果

メカノストレスセンサーX (非公開)は、ミエロイド細胞系譜、骨芽細胞、腸管上皮に発現していた。当該分子の機能を解析するためコンベンショナルノックアウトマウスを作成したところ、耐性致死であった。そこで、当該分子をミエロイド細胞系譜、骨芽細胞、腸管上皮特異的に欠損させた3種類のマウスを作出したところ、ミエロイド細胞系譜、骨芽細胞特異的な欠損マウスの骨に異常は観察されなかった一方で、腸管上皮特異的ノックアウトマウスにおいて顕著な骨量の上昇が認められた。また、当該マウスの血中のカルシウム濃度やPTH濃度に変化はなく、メカノストレスセンサーXが腸管からのカルシウム取り込み口となっている可能性は否定された。腸管上皮のトランスクリプトーム解析ならびにマイクロビオーム解析からは、当該分子を欠損した腸管上皮では複数の神経調節因子の発現が低下すると同時に腸内細菌叢の変化が認められている。現在、腸管上皮細胞で発現するメカノセンサーXを介した腸骨連関の全貌を解明すると同時に、腸管内代謝物を用いたメカノセンサーXのリガンド探索をすすめている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. Hisashi Kanemaru, Fumihiko Yamane, Kiyoharu Fukushima, Takanori Matsuki, Takahiro Kawasaki, Isao Ebina, Kanako Kuniyoshi, Hiroki Tanaka, **Kenta Maruyama**, Kazuhiko Maeda, Takashi Satoh, and *Shizuo Akira. "Antitumor effect of Batf2 through IL-12 p40 up-regulation in tumor-associated macrophages" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol 114, No 35, E7331-E7340 2017 [査読有]
2. ***Kenta Maruyama**, Yasunori Takayama, Takeshi Kondo, Ken-ichi Ishibashi, Bikash Ranjan Sahoo, Hisashi Kanemaru, Yutaro Kumagai, Mikaël M. Martino, Hiroki Tanaka, Naohito Ohno, Yoichiro Iwakura, Naoki Takemura, Makoto Tominaga, and Shizuo Akira. "Nociceptors Boost the Resolution of Fungal Osteo-inflammation via the TRP channel-CGRP-Jdp2 axis" *Cell Reports*, Vol. 19, pp2730-2742, 2017 [査読有]
3. Michelle Sue Jann Lee, **Kenta Maruyama**, Yukiko Fujita, Aki Konishi, Patrick M. Lelliott, Sawako Itagaki, Toshihiro Horii, Jing-wen Lin, Shahid Kahn, Etsushi Kuroda, Shizuo Akira, Ken J Ishii, and *Cevayir Coban. "Plasmodium products persist in the bone marrow and promote chronic bone loss" *Science Immunology*, Vol. 2, eaam8093 2017 This paper was selected as cover picture. [査読有]
4. Bikash R. Sahoo, **Kenta Maruyama**, Jyotheeswara R. Edula, Takahiro Tougan, Yuxi Lin, Young-Ho Lee, Toshihiro Horii, and *Toshimichi Fujiwara. "Mechanistic and structural basis of bioengineered bovine Cathelicidin-5 with optimized therapeutic activity" *Scientific Reports*, doi:10.1038/srep44781, 2017 [査読有]
5. ***Kenta Maruyama**, Naoki Takemura, Mikaël M. Martino, Takeshi Kondo, and Shizuo Akira. "Netrins as Prophylactic Targets of Skeletal diseases: A Double-Edged Sword?" *Pharmacological Research*, Vol. 122, pp46-52, 2017 This paper is an invited review article. [査読有]

6. ***Kenta Maruyama**, Takahiko Kawasaki, Masahide Hamaguchi, Motomu Hashimoto, Moritoshi Furu, Hiromu Ito, Takao Fujii, Naoki Takemura, Thangaraj Karuppuchamy, Takeshi Kondo, Takumi Kawasaki, Masahiro Fukasaka, Takuma Misawa, Tatsuya Saitoh, Yutaka Suzuki, Mikaël M. Martino, Yutaro Kumagai, and *Shizuo Akira. "Bone-protective Functions of Netrin 1 Protein" *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 291, pp23854-23868, 2016 This paper was selected as cover picture. [査読有]
7. Mikaël M. Martino, **Kenta Maruyama**, Scott Stanger, Takashi Satoh, Osamu Takeuchi, Ralph Muller, and *Shizuo Akira. "Inhibition of IL-1R1/MyD88 signaling promotes mesenchymal stem cell-driven tissue regeneration" *Nature Communications*, 7, 11051, 2016 [査読有]
8. Yukiko Kuroda, **Kenta Maruyama**, Hideki Fujii, Isamu Sugawara, Shigeru Ko, Hisataka Yasuda, Hidenori Matsui, and *Koichi Matsuo. "Osteoprotegerin Regulates Pancreatic β -Cell Homeostasis upon Microbial Invasion" *PLOS One*, Vol.11, e0146544, 2016. [査読有] *は責任著者
3. **丸山健太** “革新的組織滞留型抗炎症骨保護ペプチド” *メディカルジャパン 2017 大阪*(インテックス大阪、大阪)2017 年 日本語
4. **丸山健太**, 高山靖規、富永真琴、審良静男、Mikaël M. Martino、余川隆 “骨神経免疫トライアングル理論を基盤とした真菌感染随伴疼痛の発生機構ならびにその生物学的意義に関する一考察” *痛み研究会* (自然科学研究機構 岡崎カンファレンスセンター、名古屋) 2017 年 日本語
5. **Kenta Maruyama** “New players in Osteo-innate-immune system and their unexpected roles; novel molecules for novel therapies” *モナコ大学スペシャルセミナー* (モナコ大学オーストラリア再生医学研究所 ARMI、オーストラリア) 2016 年 英語
6. **丸山健太** “Novel prophylactic targets of osteoporosis and pain : from Neuro-osteological point of view” *千里ライフサイエンス振興財団 第6回 産と学をつなぐ SENRI の会* (千里ライフサイエンスセンター、大阪) 2016 年 日本語

[学会発表] (計 7 件)

1. **丸山健太** “真菌感染随伴症状と ATP” *第138回 日本薬学会 一般シンポジウム “次世代のプリン作動性化学伝達遮断薬の創成を目指して”*(金沢アートホール、金沢) 2018 年 日本語
2. **丸山健太** “真菌感染随伴疼痛の生物学的意義とは?” *第59回 歯科基礎医学会学術大会アップデートシンポジウム* (松本歯科大学、長野) 2017 年 日本語
7. **丸山健太** “革新的局所滞留型抗炎症性骨保護ペプチド” *科学技術振興機構 大阪大学新技術説明会* (JST 東京本部別館 1F、東京) 2016 年 日本語

[図書] (計 1 件)

1. **丸山健太** 「Type2 サイトカインによる感覚神経の直接刺激が痒みを増悪させる」*実験医学*、Vol35 No19、2017 年

〔産業財産権〕

○出願状況（計 2 件）

名称：真菌感染における宿主応答抑制剤

発明者：丸山健太、森山芳則、野村政壽

権利者：同上

番号：JP 特願 2017-134071

国内外の別： 国内

名称：組織損傷治療剤

発明者：丸山健太、ミカエルマルティノー

エム、審良静男

権利者：同上

番号：JP 特願 2016-036869

国内外の別： 国内

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

H29 生理学研究所研究会「第 1 回感覚免疫学

研究会」代表提案者・世話人：丸山健太

6 . 研究組織

(1) 研究代表者 丸山 健太

(Maruyama Kenta)

大阪大学世界最先端研究機構

免疫学フロンティア研究センター

研究者番号：60724119

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし