

令和 3 年 6 月 18 日現在

機関番号：84408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10071

研究課題名(和文) 時間栄養学を基盤とするビタミンDによる骨量制御機構の解明

研究課題名(英文) Regulation of Mineral metabolism by circadian Clock System

研究代表者

木下 さおり (Kinoshita, Saori)

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪母子医療センター(研究所)・骨発育疾患研究部門(旧環境影響部門)
・研究技術員

研究者番号：40746418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：骨細胞における生物時計の役割を検討した。骨細胞はリン代謝制御において中心的な役割を果たす細胞であり、リン代謝を中心に検討を行った。骨細胞特異的にBmal1を欠損するマウスでは、体重・体長に特に変化を認めなかったが、尿中リン排泄は低下し、時間依存性に血中リン濃度が増加していた。また、時間依存性にFGF23の血中濃度が骨細胞特異的Bmal1欠損マウスで低下していた。これらの結果は、骨細胞における生物時計は、リン代謝を制御していることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、生物時計の破綻が健康に悪影響を及ぼすことが明らかとなってきた。肥満、がんなどとの関連は明らかになってきているが、最近では骨粗鬆症と体内リズム破綻の関連も明らかになってきている。本研究は、骨代謝の重要な一部であるリン代謝に注目し、生物時計とリン代謝の関連を証明した研究である。本研究成果は、生物時計の破綻による骨ミネラル代謝異常の機序解明に寄与する研究と考えられる。

研究成果の概要(英文)：The role for circadian clock system in the regulation of phosphate metabolism was analyzed using mice lacking Bmal1 gene in osteocytes (KO mouse). Body weight and tail length were not different between control and KO mice. FGF23 levels in the serum was decreased in KO mice in a time-dependent manner, which resulted in higher phosphate levels in the serum and decreased urinary excretion of phosphate. These findings indicate the important role for skeletal circadian clock system in the regulation of phosphate metabolism.

研究分野：小児科学、小児内分泌学

キーワード：生物時計 Bmal1 FGF23 リン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物時計は、生体が環境のサイクル（明暗など）に適応するための生体恒常性維持システムで、その破綻は糖代謝・脂質代謝異常などと関連する。近年、骨代謝も生物時計依存性の制御を受けていることが判明してきている。事実、骨吸収・骨形成マーカーの血中濃度には日内変動があり、さらに慢性的にシフトワークを行っている看護師では骨折のリスクが増加していることが報告されている。また、骨代謝において重要な役割を果たしているミネラル代謝にもまた生物時計依存性の制御機構があり、申請者はこれまで生物時計によるリン・カルシウム代謝制御機構の解明に関わってきた。一方、骨細胞はリン代謝制御において中心的な役割を果たす細胞である。骨細胞はFibroblast growth factor 23 (FGF23)を産生分泌し、腎臓におけるナトリウムリン酸共輸送担体の発現を低下させ、リンの再吸収を抑制し、血液中リン濃度を低下させる。しかし、骨細胞における生物時計によるリン代謝制御機構の機序は不明である。

2. 研究の目的

骨細胞における生物時計のリン代謝制御機構における役割を解析すること。

3. 研究の方法

(1) 骨細胞特異的 Bmal1 欠損マウスの解析

Dmp1-Cre マウスと Bmal1-flox マウスを交配させ、骨細胞特異的 Bmal1 ノックアウトマウスを作出し (Bmal1-CKO マウス)、リン代謝の表現型の解析を行う。

成長の評価。

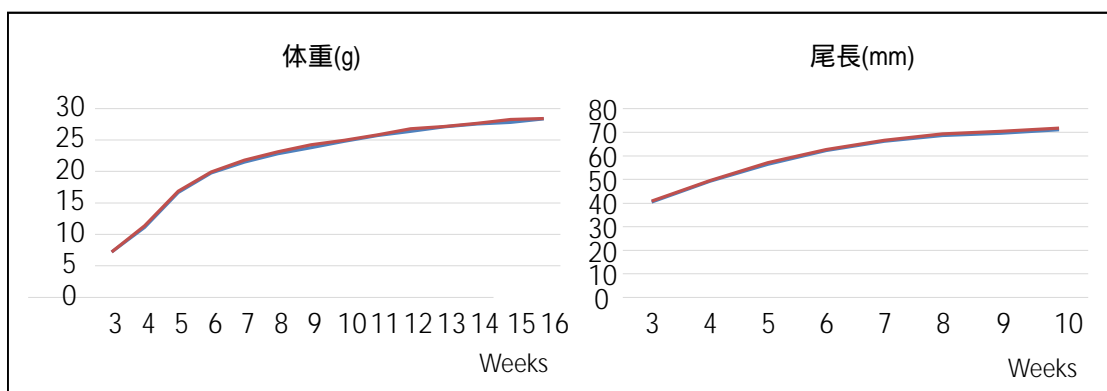
血清を用いた評価。血清の Pi、FGF23 の測定。FGF23 は ELISA 法で測定。

尿を用いた評価。メタボリックケージを用いて、24 時間尿を採尿。リン排泄の評価。

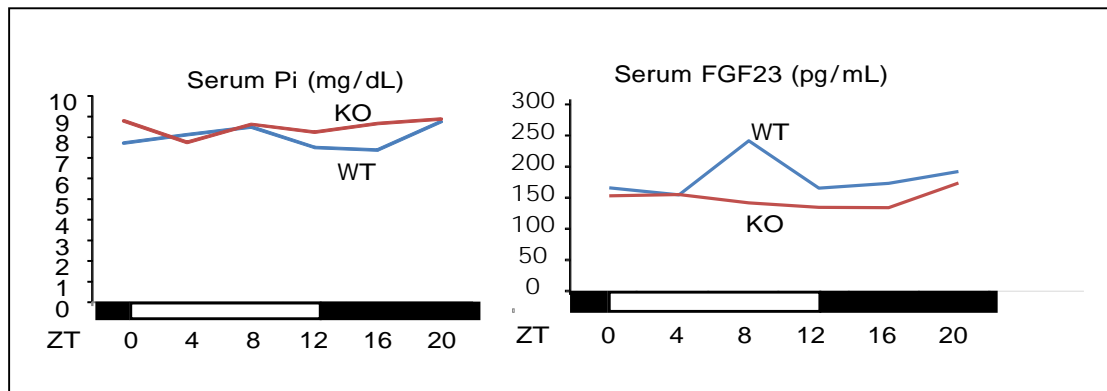
骨細胞における FGF23 発現の解析。定量 PCR による解析。

4. 研究成果

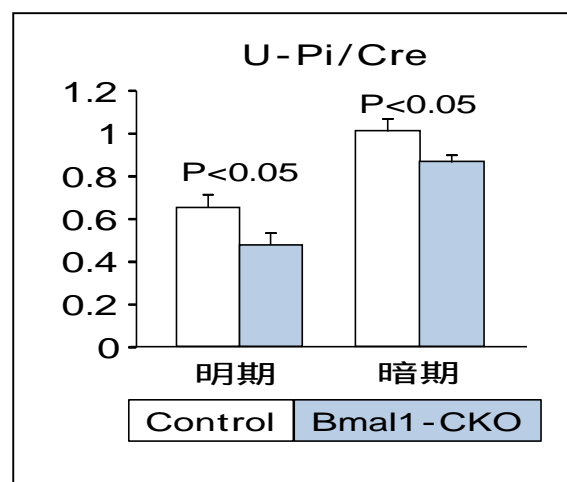
(1) コントロールマウスと Bmal1-CKO マウスの間で、体重・尾長に有意差を認めなかった。



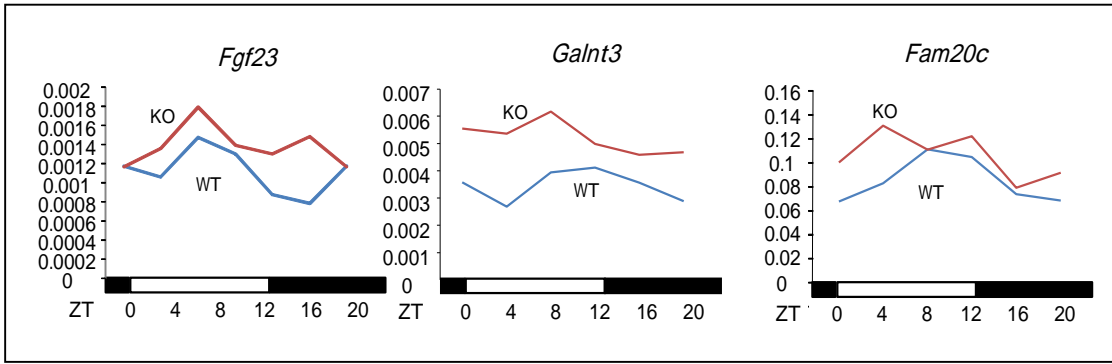
4時間ごとに採取した血清を用いて、血中FGF23濃度、リン濃度を測定した。時間依存性にFGF23濃度の低下、リン濃度の増加を認めた。



メタボリックケージを使用し、24時間尿を回収した。尿中リン排泄を評価したところ右図のように *Bmal1*-CKO マウスでは尿中リン排泄の低下を認めた。*Bmal1*-CKO における FGF23 濃度の低下に一致していると考えられた。



大腿骨を4時間ごとに回収し、RNAを抽出した。定量PCRを行い、FGF23、Galnt3、Fam20Cの発現を評価した。血清FGF23の結果と異なり、FGF23の発現は骨細胞特異的 *Bmal1* 欠損マウスで時間依存性に増加していた。そこで、骨細胞においてFGF23タンパクの糖鎖修飾、リン酸化に関わる遺伝子の発現を行った。すると、糖鎖修飾に関わる *Galnt3* 遺伝子およびリン酸化に関わる *Fam20c* の発現は骨細胞特異的 *Bmal1* 欠損マウスで時間依存性に増加していた。血液中のFGF23濃度が低下している事実とあわせて考えると、骨細胞特異的 *Bmal1* 欠損マウスでは何らかの機序でFGF23のタンパクレベルでの発現が低下し、リン代謝のバランスを保つために、代償性にFGF23の発現を上昇させるような作用が働いていると考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kawai M, Kinoshita S, Yamazaki M, Yamamoto K, Rosen CJ, Shimba S, Ozono K, Michigami T	4. 巻 4(5)
2. 論文標題 Intestinal clock system regulates skeletal homeostasis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JCI Insight	6. 最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/jci.insight.121798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 2. 川井正信、木下さおり、山崎美和、山本景子、大藪恵一、道上敏美
2. 発表標題 腸管生物時計はVDR依存性カルシウム吸収を制御し、その破綻は骨量減少を引き起こす
3. 学会等名 第51回日本小児内分泌学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------