

科学研究費補助金研究成果報告書

平成21年4月8日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791362
 研究課題名 (和文) 歯根膜、骨外膜におけるペリオスチンを介したメカニカルストレス感知メカニズムの解明
 研究課題名 (英文) Mechanosensing mechanism organized by periostin in periodontal ligament and periosteum
 研究代表者
 喜井 勲 (KII ISAO)
 東京工業大学・大学院生命理工学研究科・助教
 研究者番号：80401561

研究成果の概要：

本研究において、私は分泌タンパク質であるペリオスチンが、フィブロネクチンとテネインの二つの細胞外マトリックスタンパク質に結合し、この両者の結合を補助するスキャフォールドとして機能していることを明らかにした。このフィブロネクチンとテネインの結合は、高度に発達した細胞外マトリックスを構築し、立体的な細胞・細胞外マトリックスの網目状のアーキテクチャーを実現した。この網目状のアーキテクチャーの構造特性は、組織に負荷される外力を緩和する可能性を示唆していた。

さらに、このペリオスチンのスキャフォールド機能の欠損は、マウスにおいて脛骨過労性骨膜炎に類似した表現型を惹起した。脛骨過労性骨膜炎は、スポーツ障害の一種であることから、ペリオスチン遺伝子欠損マウスはスポーツ障害のモデル動物としての汎用性が期待される。また、スポーツ障害は外力によって組織が破壊されることで発症することから、ペリオスチン遺伝子欠損マウスにおける発症は、ペリオスチンのスキャフォールド機能喪失による網目状アーキテクチャーの崩壊が招いたものと考えられる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	0	1,500,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	450,000	3,450,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：ペリオスチン、歯根膜、骨外膜、コラーゲン、メカノセンシング

1. 研究開始当初の背景

歯根膜は咀嚼によって発生する力を緩和し、骨外膜は運動によって発生する筋肉の力を骨へと伝達する。歯根膜は、歯の噛み合わせに関わる組織であり、この異常は噛み合わせ不全や歯周病の原因となる。また、骨膜は運動によって発生する筋肉の力を緩和して骨へと伝えており、この緩和能力の喪失は過剰な運動による組織の破壊をもたらす。これら二つの組織は力の大きさに応じて、組織を作りかえることが知られているが、その分子メカニズムは明らかではない。生体組織の力学特性を決定しているのは、細胞の他に細胞外マトリックスと呼ばれる細胞外の構造物である。例えばコラーゲン等は細胞外マトリックスの一つである。この細胞外マトリックスは、建築物で言えば、基礎や鉄筋、柱として働き、生体組織の力学的強度の基盤となっている。歯根膜や骨膜の力学特性を決定しているのは、細胞外マトリックスであると考えられる。従って、細胞外マトリックスの力学特性を決定する分子メカニズムの解明は、歯根膜や骨外膜の力学特性を決定するメカニズムの解明へと繋がると考えられる。

ペリオスチンは、歯根膜、骨外膜に特異的に発現する分泌タンパク質である。現在までペリオスチンの分子機能は十分には解明されておらず、その発現特異性から歯根膜、骨外膜の力への順応性にペリオスチンが関与することが予想されていた。また、ペリオスチンタンパク質は幾つかの細胞外マトリックスタンパク質と結合することが示されており、この点からもペリオスチンの解析を通して、細胞外マトリックスの力学特性を決定するメカニズムの解明が可能であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ペリオスチンが歯根膜、骨外膜の力への順応性に対してどのような役割を持つかを解明することである。とりわけ、歯根膜、骨外膜の力を感知するメカニズムへの関与を最初に検討した。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するために、ペリオスチン遺伝子欠損マウスを用いた組織学的解析を行った。組織の解析には、野生型とペリオスチン遺伝子欠損マウスを無痛下にて安楽死させ、解剖により組織を取り出し、固定後、薄切した切片を用いた。また、培養細胞実験系を用いて、ペリオスチンタンパク質の分子生物学的解析も行った。ペリオスチンタンパク質分子の機能解析のため、遺伝子工学的にペリオスチンタンパク質を改変したものを作製した。

4. 研究成果

ペリオスチン遺伝子欠損マウスの組織学的解析の結果、このマウスの歯根膜および骨外膜は力に対して順応する能力の大部分を失っていることが明らかとなった。とりわけ、骨外膜での力に対する順応性の喪失は、脛骨過労性骨膜炎に類似した表現型を惹起した。この表現型は主に、骨膜層に炎症に類似した組織病変と異常な骨形成を伴うことが明らかとなった。脛骨過労性骨膜炎とは、ヒトにおけるスポーツ障害の一種であり、アスリートや陸上競技選手、また成長途上の子供で高頻度に発症する。脛骨過労性骨膜炎は、非常に治りにくく、治療方法もほとんど皆無である。重篤な場合は、手術によって病変部位を

取り除くことになる。これまで、この脛骨過労性骨膜炎の発症原因や組織病理はほとんど行われていない。この結果は、ペリオスチン遺伝子欠損マウスが脛骨過労性骨膜炎のモデル動物となり得、さらにスポーツ障害である脛骨過労性骨膜炎の発症原因は治療方針に対して分子生物学的なアプローチを与えられる可能性がある。

ペリオスチン遺伝子欠損マウスの歯根膜と骨膜で力への順応性が喪失していた原因を解明するため、ペリオスチンタンパク質を用いた分子生物学的解析を行った。その結果、ペリオスチンは、フィブロネクチン、テネイシン、コラーゲンの3つの細胞外マトリックスタンパク質と相互作用することで、高度に発達した細胞外マトリックス構造を構築することが明らかとなった。ペリオスチンタンパク質の改変体を用いた解析の結果、この複合体は、細胞内で形成されている可能性が高いことが明らかになった。細胞内で構築された複合体は、細胞外へと分泌され、細胞外でさらに高度に発達した細胞外マトリックス構造へと構築されていると考えられる。この高度に発達した細胞外マトリックス構造は、ナノスケールの網目状を呈しており、上記3つの細胞外マトリックスタンパク質が立体的にお互いに繋がり合っていることが確認された。ペリオスチンは、この3者の繋がりを補助するスキヤフォールドとして機能していると推察される。

以上の結果より、ペリオスチンは歯根膜、骨外膜の力への順応性を規定するための細胞外マトリックス構造の構築に関与することが明らかとなり、歯根膜、骨外膜のメカニカルストレス感知機構の解明への基盤を造り上げることに成功した。

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 2 件)

① Periostin, a novel marker of intramembranous ossification, is expressed in fibrous dysplasia and in c-Fos-overexpressing bone lesions.

Kashima TG, Nishiyama T, Shimazu K, Shimazaki M, Kii I, Grigoriadis AE, Fukayama M, Kudo A.

Hum Pathol. 2009 Feb;40(2):226-37.

査読有

② Periostin is expressed in pericryptal fibroblasts and cancer-associated fibroblasts in the colon.

Kikuchi Y, Kashima TG, Nishiyama T, Shimazu K, Morishita Y, Shimazaki M, Kii I, Horie H, Nagai H, Kudo A, Fukayama M.

J Histochem Cytochem. 2008 Aug;56(8):753-64.

査読有

③ Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction.

Shimazaki M, Nakamura K, Kii I, Kashima T, Amizuka N, Li M, Saito M, Fukuda K, Nishiyama T, Kitajima S, Saga Y, Fukayama M, Sata M, Kudo A.

J Exp Med. 2008 Feb 18;205(2):295-303.

査読有

〔学会発表〕（計 1 件）

「ペリオスチンは、ゴルジ体においてフィブロネクチンとテネイシン-C の結合の足場として機能し、脛骨過労性骨膜炎の発症を抑制する」

喜井 勲

第 26 回日本骨代謝学会学術集会

平成 20 年 10 月 30 日 大阪国際会議場

6. 研究組織

(1) 研究代表者

喜井 勲 (KII ISAO)

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・
助教

研究者番号：80401561

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし