

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：32404

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18949

研究課題名(和文) septoclastの軟骨吸収における異なる脂肪酸結合タンパク発現の意義

研究課題名(英文) Significance of another type of fatty acid-binding protein's expression in septoclastic cartilage resorption

研究代表者

坂東 康彦 (BANDO, Yasuhiko)

明海大学・歯学部・講師

研究者番号：80735548

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：表皮型脂肪酸結合タンパク(E-FABP, FABP5)を発現し骨端板軟骨吸収に関与する septoclastの一部に脂肪細胞型FABP(A-FABP, FABP4)も発現し、FABP5欠損マウスではseptoclastに形態異常が見られるが、FABP4陽性のseptoclastは正常な形態を維持しながら数が増加しペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体(PPAR) が新たに発現することを見出した。これらの結果から、PPAR を介するFABP4陽性septoclastの増加によりFABP5欠損によるseptoclastの軟骨吸収能の低下が代償されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果は原著論文Bando et al. Histochem. Cell Biol. (2021) 155:439-449とレビューBando et al. J Oral Biosci. (2022) 64:18-25で公表された。本研究ではこれまでほとんど報告されていない成長板軟骨吸収細胞septoclastの解析を行った。Septoclastに発現する複数の脂肪酸タンパク質の発現バランスと軟骨吸収能の関係が明らかになることによって、脂肪酸摂取と長管骨成長の関連に新しい理解を得る一助になることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：Adipocyte fatty acid binding protein (A-FABP, FABP4) was expressed in a substantial number of septoclasts, growth plate cartilage resorptive cells, originally expressing epidermal FABP (E-FABP, FABP5). Morphologically normal FABP4-positive septoclasts were increased and peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) was newly expressed in septoclasts in FABP5 knockout mice whose septoclasts are morphologically abnormal. These results suggest that down-regulation of cartilage resorption by septoclasts in FABP5-deficiency can be compensated by increase of FABP4-positive septoclasts mediated by PPAR .

研究分野：口腔解剖・組織・発生学

キーワード：septoclast E-FABP A-FABP PPAR growth plate mouse

1. 研究開始当初の背景

骨端板軟骨には様々なタイプの長鎖脂肪酸が豊富に蓄えられているが、蓄積された長鎖脂肪酸の軟骨内骨化における意義については未解明である。

Septoclastは骨端板の骨軟骨境界部に局在し、有機質分解酵素を発現し骨端板の非石灰化軟骨基質である横隔に伸びた突起を介して軟骨吸収に関与する (Lee et al. 1995, Nakamura et al. 2004)。

長鎖脂肪酸は細胞内に取り込まれると脂肪酸結合タンパク(fatty acid-binding protein, FABP)と結合し可溶化され細胞質内輸送をされ、脂肪酸代謝や核内レセプターPPAR(peroxisome proliferator-activated receptor)への作用が誘導される(Owada et al. 2006)。申請者らは、septoclastが、表皮型脂肪酸結合タンパク(epidermal-type FABP, E-FABP, FABP5)と、E-FABPに親和性が高く細胞分化増殖を誘導する作用のあるPPAR γ (Schug et al. 2007)を発現することを見出した。

申請者は、予備実験で、E-FABP陽性septoclastの一部が脂肪細胞型FABP(adipocyte type FABP, A-FABP, FABP4)も発現することを見出した。A-FABPとPPAR γ を介する長鎖脂肪酸シグナル伝達系は細胞増殖などを誘導する(Storch and Thumser 2010)。

2. 研究の目的

「septoclastによる骨端板軟骨吸収に伴い取り込まれた長鎖脂肪酸がE-FABPまたはA-FABPを介する作用により軟骨吸収機能に関与し、FABPサブタイプの発現バランスにより軟骨吸収を調節する」との仮説を明らかにする。

3. 研究の方法

以下の項目に関してE-FABP欠損マウスとワイルドタイプマウス(以下WTマウス)の脛骨近位端骨端板組織に対し、組織化学的手法により比較を行った。

骨端板軟骨の組織形態観察

Septoclastの分布と形態、主に突起の形態観察

A-FABP陽性septoclastの分布と形態、主に突起の形態観察

septoclastにおけるA-FABP発現の解析

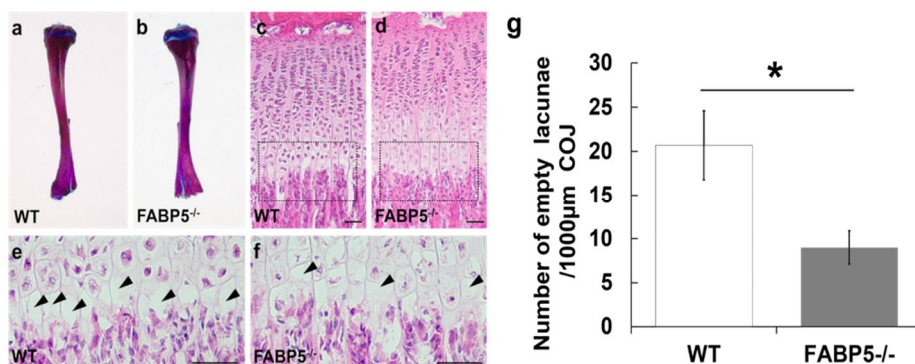
A-FABP陽性septoclastにおけるseptoclastの数計測、PPAR γ の発現の解析

PPAR γ アゴニスト(GW1929)2週間経口投与後と同様の解析

4. 研究成果

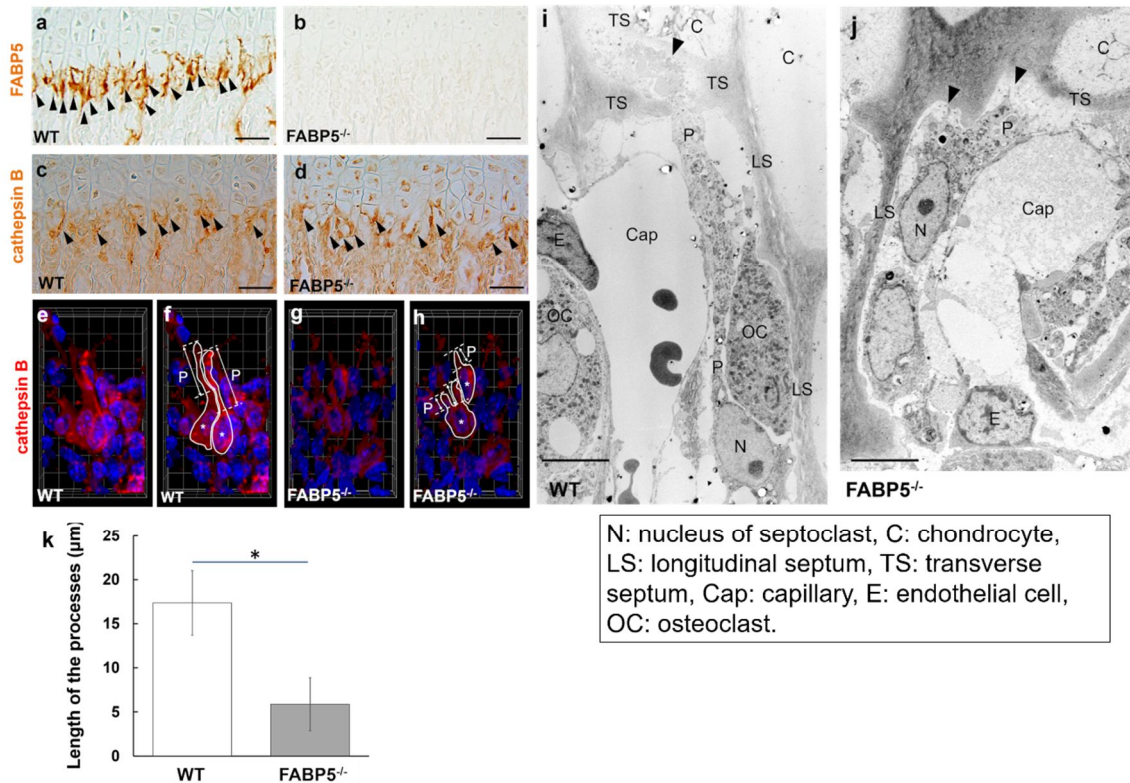
骨端板軟骨の組織形態観察

E-FABP欠損マウスの脛骨および骨端板の形態はWTマウスのものと比較して基本的な違いはないが、解放されている軟骨小腔の数に有意な減少が見られた。



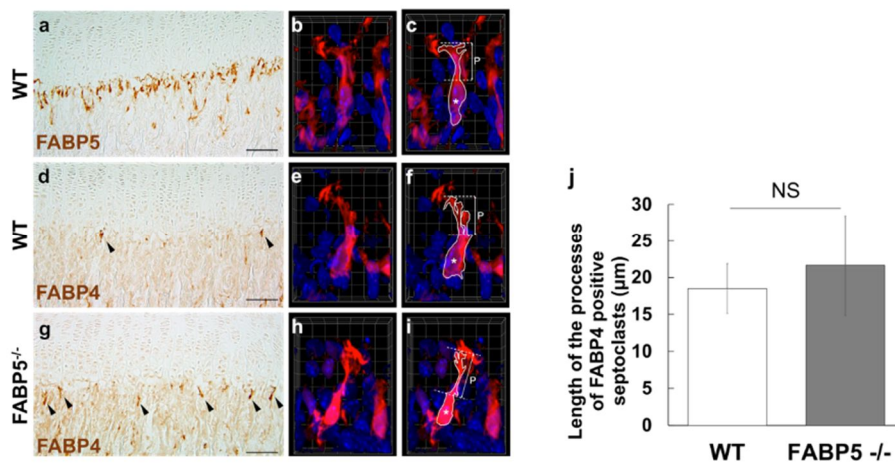
Septoclastの分布と形態、主に突起の形態観察

E-FABP欠損マウスのseptoclastはWTマウスに比べ横隔の近くに位置し、突起の長さが有意に短かった。図中FABP5、cathepsin Bは共にseptoclastのマーカである。



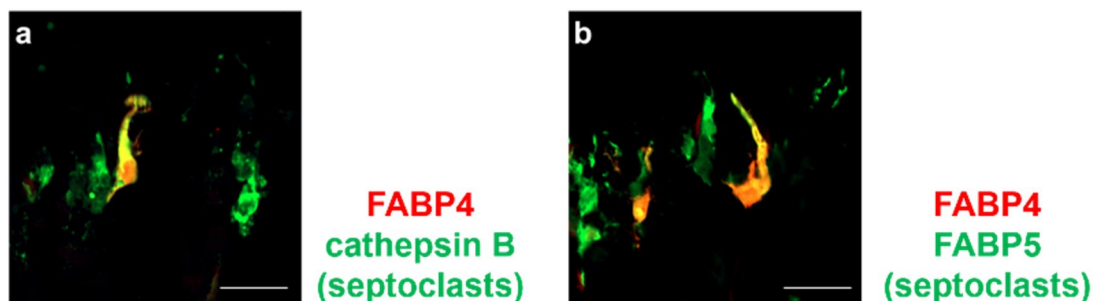
A-FABP陽性septoclastの分布と形態、主に突起の形態観察

E-FABP欠損マウスのA-FABP陽性septoclastはWTマウスに比べ多くみられ、突起の長さに違いがなかった。



septoclastにおけるA-FABP発現の解析

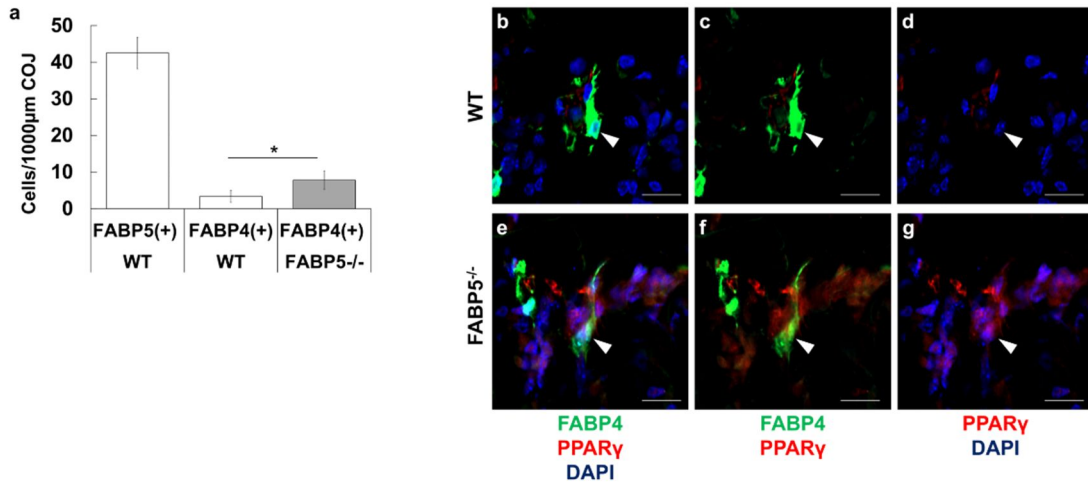
WTマウスにおいてすべてのE-FABP陽性septoclastにA-FABPの発現がみられた。この結果からseptoclastの一部にA-FABPが発現していることが分かった。



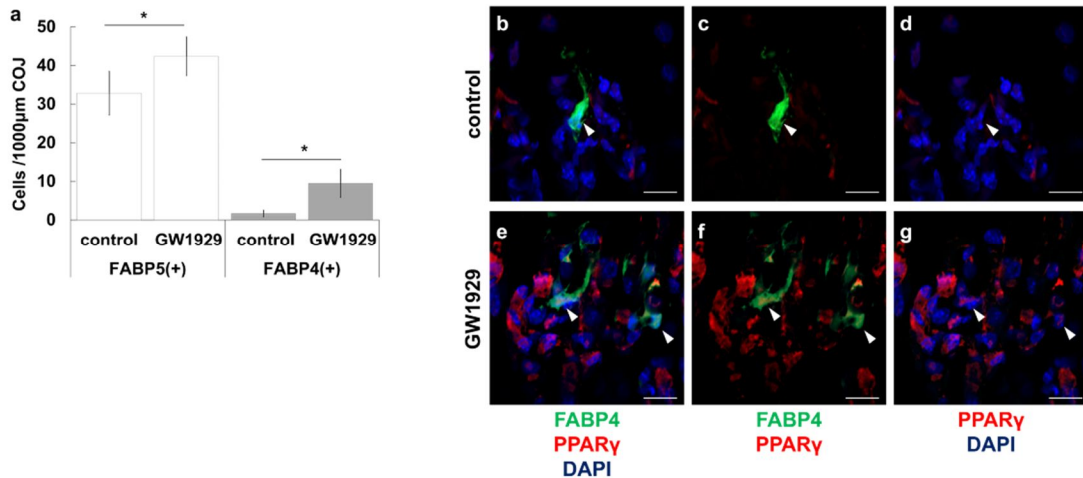
A-FABP陽性septoclastにおけるseptoclastの数計測、PPAR γ の発現の解析

WTマウスにおいてA-FABP陽性septoclastはE-FABP陽性septoclastに比べE-FABP欠損マウスのWT

マウスに比べ約8%であった。E-FABP欠損マウスのA-FABP陽性septoclastの数はWTマウスに比べ有意に(約2.5倍)多かった。WTマウスにおいてA-FABP陽性septoclastはPPAR γ を発現していなかったが、E-FABP欠損マウスでは発現していた。



PPAR γ アゴニスト (GW1929) 2週間経口投与後と同様の解析
 GW1929投与マウスのA-FABP陽性septoclastの数はコントロールマウスに比べ約6倍の有意な増加がみられた。コントロールマウスにおいてA-FABP陽性septoclastはPPAR γ を発現していなかったが、GW1929投与マウスでは発現していた。この結果からE-FABP欠損マウスにおけるA-FABP陽性septoclastの増加にはPPAR γ が関与していることが示唆された。



以上の結果からE-FABPはseptoclastの軟骨吸収能に関する形態と数の維持に重要な役割を果たすが、septoclastの形態に異常が見られるE-FABP欠損下ではseptoclastにPPAR γ が新たに発現し、形態が維持されているA-FABP陽性septoclastの数が増加することにより軟骨吸収能の低下が代償されることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Yasuhiko Bando, Nobuko Tokuda, Yudai Ogasawara, Go Onozawa, Arata Nagasaka, Koji Sakiyama, Yuji Owada, Osamu Amano	4. 巻 155
2. 論文標題 Expression and enhancement of FABP4 in septoclasts of the growth plate in FABP5-deficient mouse tibiae	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Histochemistry and Cell Biology	6. 最初と最後の頁 439-449
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00418-020-01953-y.	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 -

1. 著者名 Bando Yasuhiko, Sakashita Hide, Nagasaka Arata, Sakiyama Koji, Tokuda Nobuko, Iseki Shoichi, Owada Yuji, Amano Osamu	4. 巻 64
2. 論文標題 Septoclasts expressing epidermal fatty acid-binding protein (E-FABP, FABP5) in endochondral ossification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 18 ~ 25
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.job.2021.12.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂東 康彦, 小野澤 豪, 長坂 新, 崎山 浩司, 大和田 祐二, 天野 修
2. 発表標題 マウス成長板のseptoclastにおけるインテグリン 2の局在
3. 学会等名 日本解剖学会第109回関東支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂東 康彦, 小野澤 豪, 長坂 新, 崎山 浩司, 天野 修
2. 発表標題 マウス脛骨骨端板軟骨のseptoclastにおける integrin 2の局在
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂東 康彦, 小野澤 豪, 長坂 新, 崎山 浩司, 大和田 祐二, 天野 修
2. 発表標題 septoclastにおける integrin 2の局在と軟骨基質との関連
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂東 康彦, 徳田 信子, 小野澤 豪, 小笠原 悠大, 長坂 新, 崎山 浩司, 大和田 祐二, 天野 修
2. 発表標題 FABP5欠損マウス脛骨のセプトクラストにおけるFABP4発現の増大
3. 学会等名 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回 日本生理学会大会合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂東 康彦
2. 発表標題 マウス脛骨発生過程における septoclast の由来と発生
3. 学会等名 第62回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂東康彦, 長坂新, 崎山浩司, 天野修
2. 発表標題 軟骨内骨化におけるseptoclastの由来と役割
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019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
---------	---------