

令和 3 年 4 月 3 日現在

機関番号：63905

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22712

研究課題名(和文) 消化管メカノセンシングによる骨恒常性維持機構の解明

研究課題名(英文) RNA Sensing by Gut Piezo1 Is Essential for Systemic Serotonin Synthesis.

研究代表者

丸山 健太 (Maruyama, Kenta)

生理学研究所・生体機能調節研究領域・特別協力研究員

研究者番号：60724119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：組織が圧力を感知して応答するためには、機械刺激を認識するための受容体が必要と考えられるが、その実体はながらく不明であった。ところが最近になってPiezo1と呼ばれるカチオンチャネルが膜の張力変化に応じてCaを透過させることで当該機構を担っていることが報告された。われわれは最近になって、腸管上皮に発現するPiezo1が腸内細菌由来のRNAを認識することでセロトニンの産生を誘導し、骨と腸の恒常性をダイナミックに制御している一面を描写することに成功した (Cell, 2020)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腸内RNAあるいは腸内Piezo1を標的とした有効な「腸管セロトニン調節医療」が開発された場合、骨粗鬆症患者のみならず、潰瘍性大腸炎と過敏性腸症候群の患者にも福音がもたらされる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we discovered that the cation channel Piezo1 in the gut acts as a sensor of single-stranded RNA (ssRNA) governing 5-HT production. Intestinal epithelium-specific deletion of mouse Piezo1 profoundly disturbed gut peristalsis, impeded experimental colitis, and suppressed serum 5-HT levels. Because of systemic 5-HT deficiency, conditional knockout of Piezo1 increased bone formation. Notably, fecal ssRNA was identified as a natural Piezo1 ligand, and ssRNA-stimulated 5-HT synthesis from the gut was evoked in a MyD88/TRIF-independent manner. Colonic infusion of RNase A suppressed gut motility and increased bone mass. These findings suggest gut ssRNA as a master determinant of systemic 5-HT levels, indicating the ssRNA-Piezo1 axis as a potential prophylactic target for treatment of bone and gut disorders.

研究分野：感覚免疫学

キーワード：腸蠕動 大腸炎 骨粗鬆症 Piezo1 リボ核酸

1. 研究開始当初の背景

近年、機械刺激に応答して活性化する Ca 透過イオンチャネルとして Piezo タンパク質が同定された (*Science* 2010)。Piezo タンパク質には Piezo1 と Piezo2 の 2 種類が知られ、前者はフローストレスセンサーとして血管内皮細胞の適切な配向や血管拡張に関わること (*JCI* 2016, *Nature* 2014)、後者は痛覚神経における機械刺激感知を担うセンサーであることが明らかにされている (*Nature* 2014)。しかしながら、Piezo1 の天然リガンドや下流で活性化される effector 分子群については研究が手つかずの状態にある。

2. 研究の目的

我々は、近年発見されたメカノストレスセンサーの Piezo1 をマウス腸管上皮特異的に欠損させると、骨量が顕著に増加することを見出した。腸内環境の無菌化は骨量を増大させることが知られているが、Piezo1 腸管上皮特異的欠損マウスは抗生剤投与による腸内細菌量減少に伴った骨量増加を呈さない。現時点で Piezo1 の天然リガンドは知られておらず、これらの予備的知見は腸内細菌の何らかの成分が腸管上皮に発現する Piezo1 のリガンドとなってこれを活性化することで骨代謝を制御している可能性を示唆している。そこで本研究では腸内細菌由来の成分を用いた Piezo1 のリガンド探索ならびにその下流で活性化される遺伝子群の探索を通じた腸-骨連関を担う分子機構の解明を行う。同時に、腸管上皮 Piezo1 を標的としたあらたな骨粗鬆症治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

マウス遺伝学・生理学・免疫学のテクニックを集学駆使することで、Piezo1 の腸と骨における生理的意義の解明を目指す。

4. 研究成果

我々は、Piezo1 が腸管上皮と骨代謝細胞 (破骨細胞、骨芽細胞) で発現していることを見出した。腸と骨において Piezo1 が果たす役割を明らかにするため、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウス (*Villin Cre-Piezo1^{flx/flx}*)、破骨細胞特異的 Piezo1 欠損マウス (*LysM Cre-Piezo1^{flx/flx}*)、ならびに骨芽細胞特異的 Piezo1 欠損マウス (*Coll1a1 Cre-Piezo1^{flx/flx}*) を作成し、表現型解析を行った。その結果、破骨細胞特異的 Piezo1 欠損マウスと骨芽細胞特異的 Piezo1 欠損マウスの骨量は正常である一方、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスの骨量は顕著に上昇していることがわかった。骨形態計測を実施したところ、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスの骨では骨芽細胞による骨形成が亢進しており、これが骨量増加の原因と考えられた。近赤外蛍光プローブを経口投与して *in vivo* における腸管の蠕動運動を Shimazu SAI-1000 イメージングシステムで観察したところ、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスの腸蠕動は野生型と比較して顕著に低下していることが明らかとなった。また、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスに野生型マウスが 1 週間で全滅する濃度の DSS を投与して腸炎を惹起したところ、全数が生存した。大腸の組織学的解析を実施したところ、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスでは DSS による大腸炎が殆ど生じていなかった。以上より、腸管上皮の Piezo1 は骨形成を負に制御すると同時に腸蠕動の促進と腸炎の増悪をもたらす因子であることが明らかとなった。腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスの表現型が発現するメカニズムを明らかにする目的でトランスクリプトーム解析をおこなったところ、腸蠕動の促進と腸炎の増悪をもたらすと同時に骨形成を抑制するホルモンとして知られるセロトニンの発現³⁵⁻³⁷ が Piezo1 を欠損する腸管上皮で低下していることが明らかとなった。そこで腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスに 1 か月間セロトニンを投与したところ、腸蠕動・DSS 腸炎・骨代謝は野生型と同程度となった。それ故、Piezo1 は腸管上皮のセロトニン内分泌機構における枢軸分子であることが明らかとなった。Piezo1 が腸蠕動による機械刺激に応じてセロトニンを誘導しているのかどうかを検証するため、STREX system を用いて腸管上皮に伸展収縮刺激を加えたところ、予想に反して野生型ならびに Piezo1 を欠損する腸管上皮で同程度のセロトニンの産生亢進が観察された。それゆえ、腸管上皮の Piezo1 は機械刺激に応じて活性化しているわけではないことが推測された。腸の Piezo1 が腸内細菌依存的にセロトニンを産生しているかどうかを明らかにするため、抗生物質カクテルをマウスに投与することで腸内細菌を激減させたところ、野生型マウスでは腸管上皮のセロトニン産生が抑制されて骨量の上昇がみられた一方、腸管上皮特異的 Piezo1 欠損マウスでは当該現象が観察されなかった。これらの結果は、糞便に含まれるなんらかの腸内細菌由来の分子が Piezo1 のリガンドとなっている可能性を示唆する。実際、糞便溶解上清を Piezo1 を発現させた HEK293T 細胞にふりかけると Ca 応答が観察されたことから、当該仮

説の蓋然性は高いものと考えられた。そこで糞便溶解上清をタンパク質分画・DNA分画・RNA分画の3つにわけてCaイメージングを実施したところ、RNA分画でのみCa応答が観察され、RNAがPiezo1を活性化しうることが明らかとなった。また、詳細な解析の結果、RNAのなかでも1本鎖の形状をとるRNAがPiezo1のリガンドとなっていることが判明した。それでは、RNAはどのようなシグナル伝達経路を用いることで腸管上皮にセロトニンを誘導しているのだろうか？RNAはTLR7-MyD88経路を用いることでマクロファージに炎症性サイトカインを誘導することが知られている。しかし、TLR7やMyD88を欠損する腸管上皮にRNAをふりかけてもセロトニンの産生は野生型と同程度生じたことから、RNAはこれまで知られていないシグナル伝達経路を用いてセロトニンを誘導しているものと考えられた。細胞内Ca濃度が上昇するとカルパインやAktのシグナルが活性化することが知られているため、カルパイン阻害剤(PD150606)やAkt阻害剤(AZD5363)で腸管上皮を処理する実験をおこなったところ、RNAに対するセロトニンの誘導は顕著に抑制された。以上より、RNAはTLR経路ではなく、カルパインやAkt経路を用いてセロトニンを誘導していることが明らかとなった。最期に、腸管内に存在するRNAの生理学的意義を明らかにする目的で、野生型マウスに1カ月にわたってRNaseA(1本鎖RNAを選択的に分解する酵素)を注腸する実験をおこなった。その結果、RNaseを注腸されたマウスでは血中セロトニン濃度の低下をともなった骨量の上昇と腸蠕動の低下が認められた。以上より、腸内細菌由来のRNAはPiezo1を介してセロトニンを誘導する分子であることが明らかとなった(*Cell*, 2020)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takayama Y, Derouiche S, Maruyama K, Tominaga M.	4. 巻 20
2. 論文標題 Emerging Perspectives on Pain Management by Modulation of TRP Channels and ANO1.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 pii: E3411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20143411.	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 該当する

1. 著者名 丸山健太	4. 巻 33
2. 論文標題 感覚免疫学の視点からみた真菌感染不快情動のバイオロジー～Dectin1シグナルを介して制御される痛みと骨炎症～	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 THE BONE	6. 最初と最後の頁 29-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 丸山健太	4. 巻 38
2. 論文標題 痛みは如何にして感知され、どのような意味を持つのか?～末梢性疼痛のしられざる発生機構とその生体調節機能～	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 388-395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Maruyama K*.	4. 巻
2. 論文標題 Senso-immunology: crosstalk between nociceptive and immune systems.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEBS J	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15846. Online ahead of print.	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 -

1. 著者名 Sugisawa E, Takayama Y, Takemura N, Kondo T, Hatakeyama S, Kumagai Y, Sunagawa M, Tominaga M, Maruyama K*.	4. 巻 182
2. 論文標題 RNA sensing by gut Piezo1 is essential for systemic serotonin synthesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 609-624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2020.06.022.	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 -

1. 著者名 Julier Z, Karami R, Nayer B, Lu YZ, Park AJ, Maruyama K, Kuhn GA, Muller R, Akira S, Martino MM*.	4. 巻
2. 論文標題 Enhancing the regenerative effectiveness of growth factors by local inhibition of interleukin-1 receptor signaling.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Adv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aba7602.	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 -

1. 著者名 Maruyama K*, Kidoya H, Takemura N, Sugisawa E, Takeuchi O, Kondo T, Eid MMA, Tanaka H, Martino MM, Takakura N, Takayama Y, Akira S, Vandenbon A, Kumagai Y.	4. 巻
2. 論文標題 Zinc finger protein St18 protects septic death by inhibiting VEGF-A from macrophages.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.107906.	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 -

1. 著者名 丸山健太	4. 巻 79
2. 論文標題 腸内細菌RNAのセロトニン誘導による腸と骨の恒常性の制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 バイオサイエンスとインダストリ	6. 最初と最後の頁 34-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 丸山健太	4. 巻 38
2. 論文標題 腸のPiezo1はセロトニン産生を介して腸と骨の恒常性を調節する	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 3256-3258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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4件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 “Relationship between Bone, Immunity and Sensation ~How do integrated systems work?~ ”
3. 学会等名 山口大学医学部大学院セミナー 山口大学医学部 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 “Relationship between Bone, Immunity and Sensation ~How do integrated systems work?~ ”
3. 学会等名 生理学研究所部門公開セミナー 生理学研究所 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 “痛覚システムにビルトインされている骨自然免疫機構をあぶりだす ”
3. 学会等名 第92回日本薬理学会年会シンポジウム 大阪国際会議場 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山健太
2. 発表標題 “Nociceptor orchestrates Brain Energy Metabolism to Protect Septic Death”
3. 学会等名 痛み研究会 生理学研究所 (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://www.moleculargerontology.com/>

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
---------	---------