

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 9 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2012

課題番号：20591790

研究課題名(和文)

骨代謝における神経制御機構の解明：転写因子 Pax6 を介したシグナル伝達について

研究課題名(英文)

Regulatory mechanisms of bone metabolism by nervous system

研究代表者

加藤 直樹 (KATO NAOKI)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：90448895

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科

キーワード：骨代謝 p38MAPK Pax6 転写因子 神経再生

## 1. 研究計画の概要

我々は、神経系骨代謝調整機能に関する新たな因子を研究する目的で、神経系器官の発生・再生と骨代謝の両方で作用する転写因子や、これを活性化する MAPK に着目して研究を行い、転写因子であり発生学的に重要な Pax6 が破骨細胞分化抑制に作用していることを見出した。そこで、その強力な活性化作用をもつ p38MAPK の生体内における生理的機能を解明するため、p38 の基質結合領域に点突然変異を導入し、一部の基質との結合性を失わせた p38MAPK knock-in マウス(sem マウス)を作製した。これまで p38 knock-out マウスが胎生致死であるため、個体レベルでの骨代謝および神経再生における p38 MAPK の生理的機能は明らかとされていない。この sem マウスを用いて解析を行ったところ、骨密度は高く、破骨細胞の分化阻害が生じており、また、圧挫損傷後の神経再生についても検討を行ったところ、sem マウスでは神経再生が機能的にも組織学的にも有意差をもって遅延することを確認した。今回、p38MAPK を中心に、こうした変化をもたらす詳細なメカニズムについて骨代謝および神経再生の両面から検討したいと考えている。

## 2. 研究の進捗状況

我々は、骨代謝、リモデリングにおける神経系制御に着目し、転写因子である Pax6 や、これを活性化する MAP キナーゼ(MAPK)と呼ばれるセリン/スレオニンリン酸化酵素の 1 つである p38MAPK を中心に研究を行ってきた。p38MAPK はエフェクター細胞であり病的な骨破壊の成因となる破骨細胞の分化に必須な転写因子の活性化を調節することや、神経細胞の生命維持、再生に関与することが知られている。これまで p38 遺伝子破壊マウス

が胚性致死をきたすため、培養細胞レベルでの研究結果が報告されてきたが、様々なシグナル伝達経路が相互的に作用しあう生体内での p38MAPK の役割を考察するには限界があった。そのため、p38MAPK の阻害剤を投与することで個体レベルでの機能解析が行われてきたが、相反する結果が報告されており、未だ統一した見解に到っていない。そこで我々は p38 の基質結合領域に点突然変異を導入した p38MAPK ノックインマウス(sem マウス)を作製し、個体レベルでの p38MAPK の機能について詳細に検討した。まず骨代謝について検討したところ、骨密度は野生型と比較して、sem マウスで高く、特に海綿骨では有意差を認めた。また細胞培養の結果から、こうした骨密度の増加は破骨細胞の分化阻害により生じていると思われた。次に神経再生における p38MAPK の生理的機能について検討した。その結果、sem マウスでは神経再生が組織学的にも機能的にも遅延することを確認した。そこで、神経再生遅延の機序について、より詳細に検討する目的で、炎症性サイトカインである TNF および RhoA および MAG を抑制することで神経再生に促進的に作用するとされる IL-1 の発現などについて評価を行った。その結果、損傷後早期の TNF および IL-1 の発現は野生型と比較して sem マウスで有意差をもって低下していた。今回の個体レベルの解析結果から、骨代謝および神経再生において、p38MAPK 経路は単独で、他のシグナル伝達経路によって代償されない重要な機能を持つことが示された。

## 3. 現在までの達成度

達成度

神経再生における p38MAPK の生体内での生理的役割について初めて証明する事が出来た。

#### 4. 今後の研究の推進方策

p38MAPK knock-in マウス(sem マウス)を用いて、特にその kinase 経路の役割に着目し研究を続けていきたい。

#### 5. 代表的な研究成果

(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6件)

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、禾泰壽、酒井宏哉、織田弘美、個体レベルにおける p38 MAPK の神経再生への関与 第2報、末梢神経、21(2)、320-321、2010、無

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、禾泰壽、織田弘美、p38 MAPK シグナル伝達障害により神経再生は遅延する：変異型 p38 ノックインマウスを用いた知見、末梢神経、21(1)、84-90、2010、有

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、禾泰壽、織田弘美、生体内における p38 MAPK を介した神経再生制御機構(第2報)、日本手外科学会雑誌、27(1)、S276、2010、無

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、禾泰壽、織田弘美、個体レベルにおける p38 MAPK の神経再生への関与、末梢神経、20(2)、174-175、2009、無

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、禾泰壽、織田弘美、生体内における p38 MAPK を介した神経再生制御機構：遺伝子マウスを用いた個体レベルでの検討、日本手外科学会雑誌、26(1)、S298、2009、無

加藤直樹、松本征仁、緒方正人、関川三四子、禾泰壽、織田弘美、遺伝子組み換えマウスを用いた p38 MAPK の神経再生制御機構に関する新たな知見、末梢神経、19(2)、398、2008、無

[学会発表](計7件)

加藤直樹ほか、骨代謝および神経再生における p38 MAPK の役割：遺伝子組み換えマウスを用いた知見 日本整形外科学会基礎学会(25) 2010年10月14日、京都

加藤直樹ほか、個体レベルにおける p38 MAPK の神経再生への関与 第2報、第21回日本末梢神経学会、2010年9月4日、仙台

加藤直樹ほか、生体内における p38 MAPK を介した神経再生制御機構 第2報、第52回日本手外科学会、2010年4月15-17日、新潟

加藤直樹ほか、個体レベルにおける p38 MAPK の神経再生への関与、第20回日本末梢神経学会、2009年9月4-5日、埼玉

加藤直樹ほか、生体内における p38 MAPK を介した神経再生制御機構：遺伝子改変マウスを用いた個体レベルでの検討、第52回日本手外科学会、2009年4月17日、東京

加藤直樹ほか、変異型 p38 ノックインマウス

スを用いた骨代謝における p38 MAPK の関与、第26回日本骨代謝学会、2008年10月29-31日、大阪

加藤直樹ほか、遺伝子組み換えマウスを用いた p38 MAPK の神経再生制御機構に関する新たな知見、第19回日本末梢神経学会、2008年9月5-6日、名古屋