

令和 6 年 4 月 12 日現在

機関番号：84305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08877

研究課題名(和文)骨伸長の内分泌調節機序の解明

研究課題名(英文) Systemic/endocrine and autocrine/paracrine regulation of endochondral bone growth

研究代表者

八十田 明宏 (Yasoda, Akihiro)

独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・その他部局等・臨床研究センター長

研究者番号：50378642

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)：C型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)/ナトリウム利尿ペプチド受容体-B(NPR-B)経路は強力な骨伸長促進作用を持つが、成長ホルモン(GH)-インスリン様成長因子-1(IGF-1)経路も以前から知られている有力な成長促進系である。本研究では培養実験系や実験動物を用いて両経路の相互作用を解明した。マウス胎仔脛骨の器官培養によるCNPおよびIGF-1の共投与実験では培養体脛骨の相加的な伸長促進作用が確認された。また、GH欠損ラットおよびCNPノックアウトラットの交配実験により作成されたダブルノックアウトラットでは両系統の欠損の相加的かつそれぞれの経路に特徴的な骨伸長障害が複合した形態が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨系統疾患は骨組織の障害により形成異常をきたす疾患の総称であるが、その骨伸長障害に対して有効な内科的治療は存在しなかった。申請者はCNP/NPR-B経路が強力な骨伸長促進作用を持つことを発見し、骨系統疾患の代表的な疾患である軟骨無形成症に対する有効性を疾患モデル動物を用いて証明した。CNP/NPR-B経路の活性化を利用した製剤であるvosoritideが最近上市されている。一方でGH-IGF-1経路は以前から知られている有力な成長促進系であり、本研究で両経路の相互作用が明らかとなれば、以前より臨床で使用されている成長ホルモンとの共投与の有効性などに関する新たな知見が得られることが期待される。

研究成果の概要(英文)：C-type natriuretic peptide (CNP)/natriuretic peptide receptor-B (NPR-B) signaling pathway potently stimulates endochondral bone growth, whereas growth hormone (GH)-insulin-like growth factor-1 (IGF-1) signaling works so as well. Here we studied the interaction between these two signaling pathways using in vitro/ex vivo/in vivo experimental systems. CNP and IGF-1 additively stimulated the growth of explanted fetal murine tibiae in organ culture experiment. Then we crossed GH depleted rats with CNP knockout rats and generated rats depleted with both GH and CNP, followed by the analysis of the skeletal phenotypes of these resultant double-knockout rats. The bones formed through endochondral bone growth were shorter in the double knockout rat than in each knockout rat, elucidating the additive impairment caused by the deletion of these two signaling pathways.

研究分野：内分泌内科

キーワード：CNP NPR-B 成長ホルモン IGF-1 内軟骨性骨化 骨伸長 ノックアウトラット

1. 研究開始当初の背景

骨組織-骨格はいうまでもなく個体の形態を維持する要であるが、その成長-伸長障害はさまざまな原因で惹起され、臨床的にも比較的高頻度に遭遇する。栄養障害や内分泌疾患のように原因の除去がその改善に繋がる場合もあるが、遺伝子変異により骨組織そのものに異常を認める骨系統疾患や異型症候群などもあり、しばしばOOLの低下を招き、さらに重症になると著しい運動障害をきたす。しかし、現時点で骨伸長を促進する薬剤は殆どなく、一部の疾患に成長ホルモン(GH)の投与が認可されているのみである。

哺乳類の骨組織は椎骨や四肢の長管骨などその殆どが内軟骨性骨化と呼ばれる様式で形成され、伸長する(図1)。そのプロセスは、まず軟骨の鑄型が形成され、それが石灰化した硬骨に置換される複雑なものであるが、内軟骨性骨化により形成される骨の伸長は、鑄型である軟骨の伸長や石灰化骨への置換の効率などに依存し、さまざまなホルモンやサイトカインなどに調節されている。ところが、生体レベルで最終的に骨伸長を促進する因子はこれまで殆ど見出されておらず、唯一成長ホルモン(GH)-インスリン様成長因子-I(IGF-I)経路の成長促進作用の非特異的な一面として認知されていた。

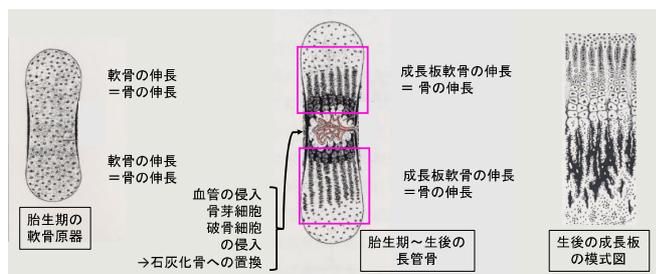


図1. 内軟骨性骨化による骨の伸長と成長板の模式図

一方、最近新たな骨伸長促進の薬物治療戦略として急速に脚光を浴びているのがC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)/ナトリウム利尿ペプチド受容体-B(NPR-B)経路である。CNPは循環器系の調節ホルモンとして著名なANP、BNPとファミリーを形成する生理活性ペプチドで、膜型グアニル酸シクラーゼそのものである受容体(NPR-B)に結合してセカンドメッセンジャーcGMPを産生し、生理作用を発揮する。ANPやBNPと異なりubiquitousに発現する局所因子とされていたが、これまでに申請者はCNPおよびNPR-Bが成長板軟骨に発現し(図2B)、内因性局所因子として強力に骨伸長を促進していることを、成長板軟骨特異的CNPあるいはNPR-Bノックアウトマウスにおける著明な骨伸長障害や成長板軟骨特異的CNP過剰発現トランスジェニックマウスにおける骨の著しい過伸長によって証明した。

また、血中濃度上昇型のCNPトランスジェニックマウスにおける骨の過伸長やマウスに対する合成CNPの投与による骨伸長促進作用の発見、さらには疾患モデルマウス、特に骨系統疾患の代表的疾患であり著しい四肢短縮型の骨伸長障害をきたす軟骨無形成症のモデルマウスに対するCNPの有効性を検証した研究は、米国Biomarin社によるCNPアナログ(vosoritide)の臨床開発に繋がり、その治験第二相において見られた効果は最近New England Journal of Medicine誌に掲載された。

このように、CNP-NPR-B系は新規の骨伸長促進のための治療戦略として成果が期待されるが、一方で以前より有力な成長促進系としてGH-IGF-I系が知られており、前述のようにGHは骨伸長障害に対する現在唯一の治療薬として認可されている。

2. 研究の目的

これまでに、骨伸長促進系としてのCNP-NPR-B系とGH-IGF-I系の関係や相互作用に関する知見はなかった。本研究では、培養実験系や実験動物(特にCNPあるいはGHの欠損ラット)を用いて両経路の相互作用を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

マウス胎仔長管骨器官培養を行い、i) CNPの投与、あるいはii) GHまたはIGF-Iの投与による伸長に及ぼす効果、形態学的変化を解析する。さらに、iii) CNPおよびGHまたはIGF-Iを共投与して同様の解析を行い、i)およびii)の結果と比較する。実験動物を用いた検討として、GH欠損ラットおよびCNPノックアウトラットを交配してダブルノックアウトラットを作成して、その形態を解析した。

4. 研究成果

マウス胎仔脛骨の器官培養によるCNPおよびIGF-Iの共投与実験では、CNPおよびIGF-

I の共投与により培養体脛骨の相加的な伸長促進作用が確認された。
GH 欠損ラットおよび CNP ノックアウトラットの交配実験により作成されたダブルノックアウトラットでは、それぞれのノックアウトラットよりさらに顕著な骨伸長障害が認められ、骨伸長に重要な両系統の二重欠損により相加的かつそれぞれの経路に特徴的な骨伸長障害が複合した形態が確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yasoda Akihiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Physiological and Pathophysiological Effects of C-Type Natriuretic Peptide on the Heart	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biology	6. 最初と最後の頁 911～911
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biology11060911	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 Handa Takaya, Mori Keita P., Ishii Akira, Ohno Shoko, Kanai Yugo, Watanabe-Takano Haruko, Yasoda Akihiro, Kuwabara Takashige, Takahashi Nobuyuki, Mochizuki Naoki, Mukoyama Masashi, Yanagita Motoko, Yokoi Hideki	4. 巻 11
2. 論文標題 Osteocrin ameliorates adriamycin nephropathy via p38 mitogen-activated protein kinase inhibition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1095-1098
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-01095-8	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 Nishiguchi Yoshihiko, Hata Yusuke, Date Ryosuke, Fujimoto Daisuke, Umemoto Shuro, Kanki Tomoko, Yokoi Hideki, Mori Keita P., Handa Takaya, Watanabe-Takano Haruko, Kanai Yugo, Yasoda Akihiro, Izumi Yuichiro, Kakizoe Yutaka, Mochizuki Naoki, Mukoyama Masashi, Kuwabara Takashige	4. 巻 37
2. 論文標題 Osteocrin, a bone-derived humoral factor, exerts a renoprotective role in ischemia/reperfusion injury in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nephrology Dialysis Transplantation	6. 最初と最後の頁 444～453
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/ndt/gfab286	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 Watanabe-Takano Haruko, Ochi Hiroki, Chiba Ayano, Matsuo Ayaka, Kanai Yugo, Fukuhara Shigetomo, Ito Naoki, Sako Keisuke, Miyazaki Takahiro, Tainaka Kazuki, Harada Ichiro, Sato Shingo, Sawada Yasuhiro, Minamino Naoto, Takeda Shu, Ueda Hiroki R., Yasoda Akihiro, Mochizuki Naoki	4. 巻 36
2. 論文標題 Mechanical load regulates bone growth via periosteal Osteocrin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109380～109380
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2021.109380	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 Ueda Yohei, Hirota Keisho, Yamauchi Ichiro, Hakata Takuro, Yamashita Takafumi, Fujii Toshihito, Yasoda Akihiro, Inagaki Nobuya	4. 巻 15
2. 論文標題 Is C-type natriuretic peptide regulated by a feedback loop? A study on systemic and local autoregulatory effect	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0240023 ~ 0240023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0240023	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3件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 八十田 明宏
2. 発表標題 CNPの骨伸長促進作用のメカニズムと軟骨無形成症への臨床応用
3. 学会等名 ボックスソゴ西日本 新発売記念講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八十田 明宏
2. 発表標題 CNPの骨伸長促進作用のメカニズムと軟骨無形成症への臨床応用
3. 学会等名 第55回 日本小児内分泌学会 学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 八十田 明宏
2. 発表標題 成長を促進するホルモンー4つの柱 : CNP
3. 学会等名 Nordiscience Forum (招待講演)
4. 発表年 2021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
研究分担者	植田 洋平 (Ueda Yohei) (30848213)	京都大学・医学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	島津 章 (Shimatsu Akira) (90196494)	独立行政法人国立病院機構(京都医療センター臨床研究センター)・臨床研究企画運営部・客員研究部長 (84305)	

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