

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18760

研究課題名（和文）機械的受容体シグナルを応用した新規硬組織形成誘導法の開発

研究課題名（英文）Development of a novel method for inducing hard tissue formation by mechanoreceptor signaling

研究代表者

杉本 明日菜（Sugimoto, Asuna）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：80823830

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）：本研究では、細胞外圧負荷による骨芽細胞系細胞分化に関わるCaチャンネルであるPIEZ01の詳細な分子メカニズムの解明を目指した。本研究の結果から、PIEZ01が活性化によって引き起こされるERKのリン酸化には、細胞外からのCaの流入が必要であること、またそのCaの流入、ERKのリン酸化にPIEZ01のC末のR-Ras結合領域が関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PIEZ01は骨組織の維持や骨の形成に重要な機械的刺激シグナルの認知をサポートするが、PIEZ01の間葉系幹細胞を骨芽細胞系細胞へ分化誘導する分子メカニズムについてはいまだ不明な点が多くある。本研究において、骨髄および歯髄由来の間葉系幹細胞におけるPIEZ01の骨芽細胞系細胞への分化誘導における詳細な分子メカニズムの解明を行うことで、PIEZ01シグナルを応用した骨組織での再生療法の新規開発や骨系統疾患への治療応用の開発に繋がることが期待できる。

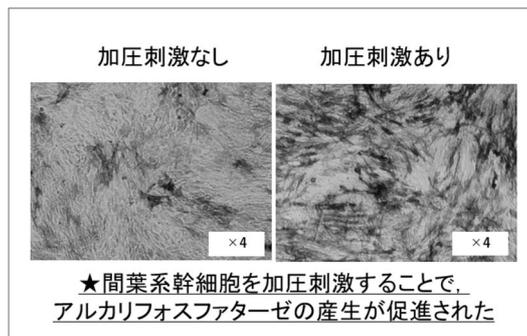
研究成果の概要（英文）：In this study, I investigated the detailed molecular mechanism of PIEZO1 which is a Ca channel involved in osteoblast lineage cell differentiation induced by extracellular pressure loading. The results of this study suggest that the phosphorylation of ERK induced by PIEZO1 activation requires Ca ion influx from extra cell and that the R-Ras binding domain of PIEZO1 may be involved in the Ca ion influx and ERK phosphorylation.

研究分野：小児歯科

キーワード：PIEZ01 機械的受容体 メカニカルストレス 間葉系幹細胞 硬組織形成

1. 研究開始当初の背景

骨組織の維持および骨の形成に、圧の刺激が重要であることは知られていたが、どのような受容体がそうした圧による機械的刺激シグナルの認知をサポートしているのかについては不明であった。われわれは、先行する研究において、独自の加圧培養装置を設計・作成し、骨髄および歯髄由来の間葉系幹細胞へ静水圧負荷による加圧培養を行った。その結果、加圧刺激を負荷することにより、間葉系幹細胞が骨芽細胞系細胞へと分化誘導される過程において、間葉系幹細胞に強く発現する圧受容体である PIEZ01 が重要であることを明らかにした (Sugimoto A, et al. *Sci Rep* 2017)。PIEZ01 は間葉系幹細胞において、加圧刺激により、骨分化に重要な遺伝子である *BMP2* の発現を誘導し、間葉系幹細胞を骨芽細胞系細胞へと分化誘導することを見出した。さらに、加圧刺激がない条件においても、間葉系幹細胞において PIEZ01 を活性化することで、加圧刺激を行った場合と同じように、骨芽細胞系細胞への分化が促進することがわかった。また骨芽細胞における Piezo1 ノックアウトマウスを用いた研究により、PIEZ01 が骨の形成に重要な役割を果たすことが示された (Weijia S, et al. *eLIFE* 2019)。これらのことから、PIEZ01 は骨形成に不可欠な分子であると考えられ、PIEZ01 シグナルを応用することで、骨組織での再生療法の新規開発や骨系統疾患への治療応用の開発に繋がることが期待できる。



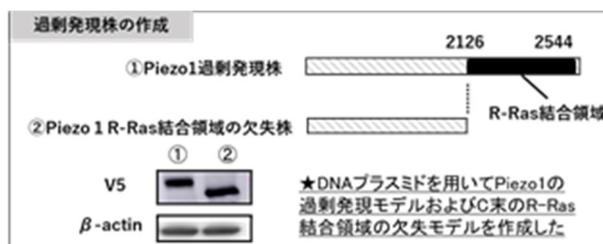
2. 研究の目的

PIEZ01 が間葉系幹細胞の骨芽細胞系細胞への分化を誘導する分子メカニズムについてはいまだ不明な点が多くある。そこで、本研究において、骨髄および歯髄由来の間葉系幹細胞における PIEZ01 の骨芽細胞系細胞への分化誘導について、詳しい分子メカニズムの解明を進めたい。そして、その分子メカニズムを応用することで、新規の硬組織形成技術の開発を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

1) PIEZ01 活性化における細胞内のカルシウムイオンの動態について Fluo-4AM を用いての解析を行った。さらに、PIEZ01 によって活性化される細胞シグナルである ERK について、カルシウムイオンとの関連を検討した。

2) マウス Piezo1 全長の過剰発現株細胞および Piezo1C 末の R-Ras 結合領域を欠失させた細胞株を用いて、細胞内カルシウムイオンおよび ERK のリン酸化との関連について検討した。



4. 研究成果

1) 骨髄由来間葉系幹細胞である UE7T-13 細胞を PIEZ01 活性化剤にて刺激すると、細胞内のカルシウム濃度が上昇し、ERK のリン酸化が観察された。しかし、細胞外のカルシウムイオンを欠失させた場合には ERK のリン酸化はみられなかった。このことから、PIEZ01 活性化によって誘導される ERK のリン酸化には細胞外からのカルシウムイオンの流入が必要であることが示唆された。

2) Piezo1 を過剰発現させた HEK293 細胞と Piezo1 の R-Ras 結合領域を欠失させた HEK293 細胞を作成し、PIEZ01 を活性化させたところ、R-Ras 結合領域を欠失させた細胞では、PIEZ01 活性化でみられる細胞内 Ca の上昇や ERK のリン酸化が抑制される結果を得た。このことから PIEZ01 の R-Ras 結合領域が PIEZ01 を活性化した際の細胞内の Ca 上昇と骨芽細胞分化に重要な ERK のリン酸化に重要であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kurogoushi Rika, Hasegawa Tomokazu, Akazawa Yuki, Iwata Kokoro, Sugimoto Asuna, Yamaguchi-ueda Kimiko, Miyazaki Aya, Narwidina Anrizandy, Kawarabayashi Keita, Kitamura Takamasa, Nakagawa Hiroshi, Iwasaki Tomonori, Iwamoto Tsutomu	4. 巻 22
2. 論文標題 Fibroblast growth factor 2 suppresses the expression of C-C motif chemokine 11 through the c-Jun N-terminal kinase pathway in human dental pulp-derived mesenchymal stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine	6. 最初と最後の頁 1356
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2021.10791	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------