

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K20496

研究課題名（和文）認知症と骨粗鬆症を同時に制御できる方法の開発基盤

研究課題名（英文）Research for the development of methods to control age-related diseases and bone diseases

研究代表者

根岸 貴子（古賀貴子）（Negishi, Takako）

順天堂大学・大学院医学研究科・特任准教授

研究者番号：90451905

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 19,900,000円

研究成果の概要（和文）：アルツハイマー病モデルマウスを用いて、アミロイド が骨組織に沈着し骨量減少を引き起こすことを明らかにした。骨組織へのアミロイド の沈着は、脳内での沈着や認知機能・学習機能の低下とも独立して発生する可能性が示唆された。またこのモデルマウスでは行動異常の発症時期に前後して、何らかの循環性の細胞と膝関節細胞での遺伝子発現変化を介して、軽い運動負荷（トレッドミル）による脛骨の易骨折性を誘導した。脳内の変性に依存する液性因子が骨脆弱性を引き起こすことが示唆された。この骨脆弱性は自然発生の学習記憶障害を呈するマウスでは検出されなかったことから、神経障害性のアミロイド に依存した骨脆弱性であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢とともに心身の活力（運動機能や認知機能等）が低下するフレイルやロコモティブシンドローム（ロコモ）は要介護状態の前段階であり、フレイルや初期のロコモの段階で積極的に改善をめざすことができれば超高齢社会で要介護人口の増加に歯止めをかける一助となる。その意味で、リハビリや運動療法は初期の認知症やフレイルを発症した高齢者に推奨される。リハビリや運動療法が認知症にも効果があることを分子レベルで証明できれば、それを人為的な治療・薬剤開発の基盤にできる。運動器と脳・神経系の関連を担う因子を探求することは、学術的にも新たな発見につながり、社会的にも新規制御法の開発に繋がる。

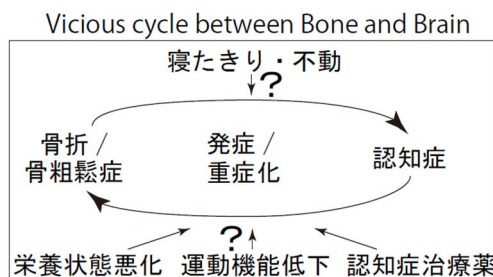
研究成果の概要（英文）：Using a mouse model of Alzheimer's disease, we found that amyloid-b deposited in bone tissue and caused bone loss, suggesting that deposition of amyloid-b in bone tissue may occur independently of its deposition in the brain and of impaired cognitive function and learning. In this mouse model, mild exercise by treadmill induced tibia fracture susceptibility resulted from gene expression changes in certain circulating cells and knee joint cells around the time of onset of behavioral abnormalities. It was suggested that a degeneration-dependent humoral factor in the brain causes bone fragility. This bone fragility was not detected in mice with spontaneous memory deficits, suggesting neuropathic amyloid-b-dependent bone fragility.

研究分野：骨代謝学

キーワード：骨代謝学 加齢性疾患 骨粗鬆症 破骨細胞 骨芽細胞

1. 研究開始当初の背景

超高齢社会における2大疾患として、骨粗鬆症と認知症といった精神・神経疾患が挙げられる。どちらも加齢に伴うため併存する率が高いのは当然と捉えられがちであるが、近年では骨と脳・神経系は相互に関連しあう可能性が示唆され始めてきた。ウォーキングやストレッチといった軽い運動、リハビリテーション(リハビリ)は、要介護状態前状態であるフレイルの進行を防ぐだけでなく、治療法のない認知症患者の記憶・学習能力を改善させるといわれている。リハビリが記憶や空間学習能力を司る海馬の体積の退縮を防ぎ、さらには増加させることが明らかにされた(PNAS, 108, 3017, 2011)。また、アルツハイマー病モデルマウスに高脂肪食を与えて認知症を悪化させる実験モデルマウスに自発的な運動をさせると、高脂肪食を与えない食事療法よりも効果的に認知機能を改善させることが報告されてきた(J. Biol. Chem. 287, 23024, 2012)。初期の認知症に対して運動療法を行った場合、運動が脳内アセチルコリンの分泌を促して海馬神経の増殖を高めるといわれている。このように、運動が認知・学習能力を改善させることが分子レベルで明らかにされ始めていたが、認知・学習を司る脳・神経系の疾患がどのように骨代謝に影響を及ぼすのかについては解明されていないことが多い。



このように、運動が認知・学習能力を改善させることが分子レベルで明らかにされ始めていたが、認知・学習を司る脳・神経系の疾患がどのように骨代謝に影響を及ぼすのかについては解明されていないことが多い。

2. 研究の目的

加齢に伴う脳の老化において、神経系を構成するタンパク質の生理機能の喪失やタンパク質の毒性・病原性の獲得が、神経回路の破綻ひいては認知症の発症を導く。代表的な認知症のアルツハイマー病(AD)ではアミロイドβ(Aβ)の凝集が発症の一因とされる。本研究は、加齢に伴う認知症の発症原因がどのように骨代謝異常に結び付くのか、下記の様々な加齢モデルマウスを比較することにより、その共通原因またはそれぞれの病因について解析する。

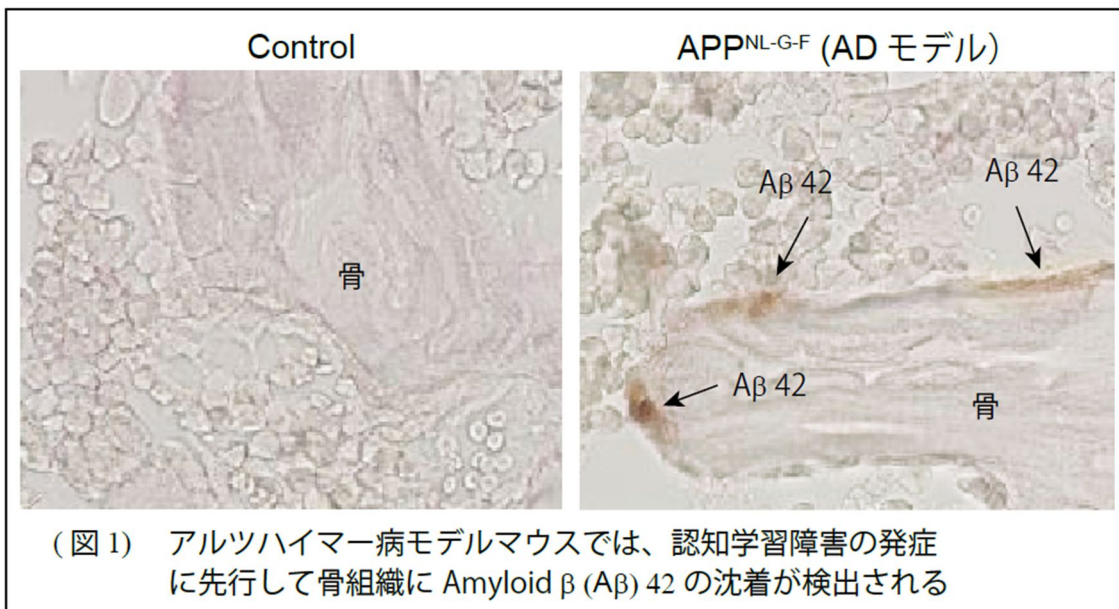
3. 研究の方法

- (1) 次世代AD病モデルマウス(Nat. Neurosci., 17, 661, 2014)：AD発症原因となるAβのヒト遺伝子変異を導入したマウスが、ADモデルマウスとして多数開発され、骨量減少を呈することが報告されている。しかし、Aβ発現量が過剰であること、脳内Aβ沈着と骨量減少の相関が得られないことなど、不明な点が多い。Aβ発現量が野生型やヒト疾患に類似した次世代ADモデルマウス(APP^{NL-F-KI})の表現型を比較対象として、他の脳・神経変性疾患の骨代謝に関与するAβの可能性を検証する。
- (2) SAM-P老化促進モデルマウス：加齢に伴い大脳皮質や辺縁系が委縮し学習記憶障害(SAMP8, 10)、老年性骨粗鬆症と大腸炎(SAMP6)を呈する老化の自然発症マウス。前頭部大脳皮質の委縮とニューロンの減少、残存ニューロンの細胞体面積が減少しているが、ヒトの老人班や神経原線維変化は見られない(SAMP8,10)。これらのマウスは、運動能力、聴覚、痛覚に異常がないことが確認されているため、運動や外界の刺激受容を介した骨への影響の可能性を排除することができる。これらのマウスを比較することで、認知症に付随する骨粗鬆症を証明し、その原因を探索する。
- (3) 物理的脳損傷モデルマウス：頭部外傷や脊髄損傷後、または認知症患者は骨折治療が早いことや異所性骨化が起こりやすいことが知られている。そのリンクを担うものは何か？酢酸誘発脳梗塞モデルを作製し、脳梗塞による脳壊死を引き起こす。マウス頸動脈に酢酸を注入することで血栓を作り、血流により脳梗塞を発症させることができる。症状の程度を制御することが可能であり、自発運動が不可能にならないが脳壊死を起こすことができる。

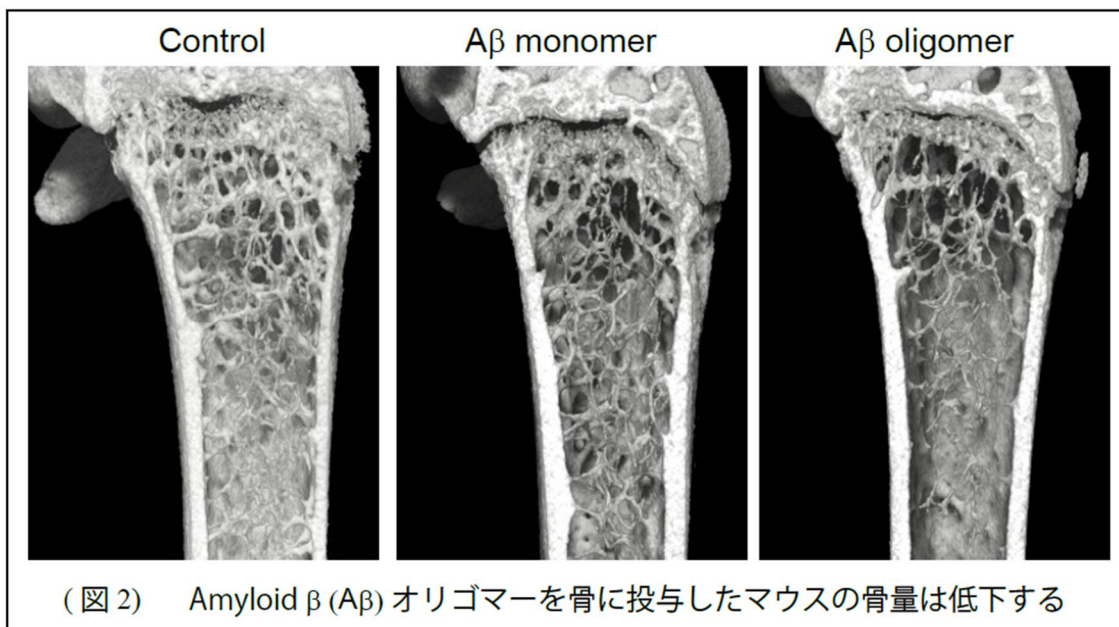
4. 研究成果

- (1) 次世代AD病モデルマウス(APP^{NL-F-KI})を用いた解析

APP^{NL-F}-KI マウスでは、生後6か月齢以降に Y 字迷路テストによって評価した行動異常がみられたが、脳内アミロイド斑の形成は行動異常の発症に先立つ生後2か月以降に検出された。そこでこの時期を境に、骨組織と骨代謝の詳細を経時的に解析したところ、脳内アミロイド斑の形成が検出されるより以前の、生後8週令で、AD 原因物質である Amyloid β ($A\beta$) の骨組織への沈着と骨量低下が認知学習障害に先行することを見出した(図1)。

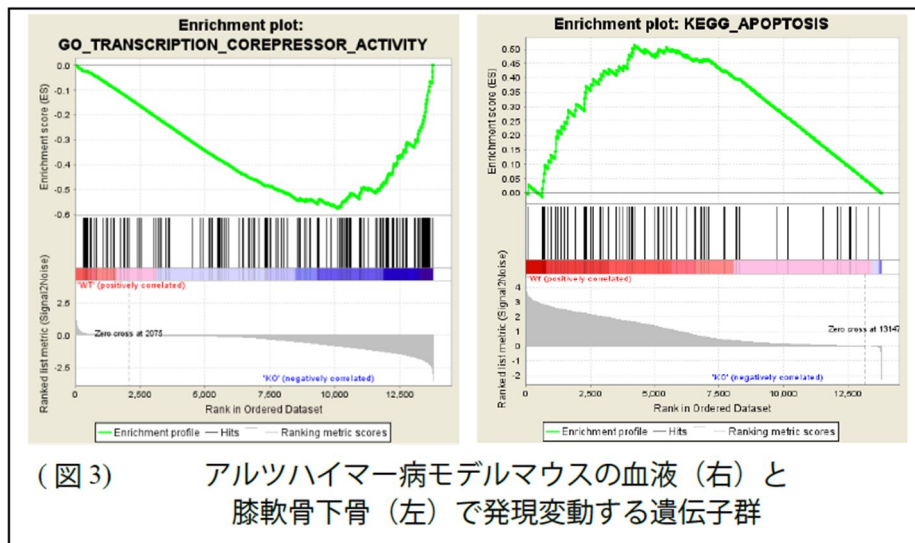


また、リコンビナント $A\beta$ を正常マウス骨髄へ投与すると、神経毒性の高いオリゴマータイプの $A\beta$ を投与下マウスにおいて、骨量減少を来すことを認めた(図2)。



続いて、運動負荷が APP^{NL-F}-KI マウスの行動異常発症を遅延または予防するか否かを評価するために、水平トレッドミルを用いた強制運動負荷テストを実施したところ、軽い運動にもかかわらず(7.5分/日)、コントロールマウスと比べて容易に運動テストを脱落する結果となった。そこで、5日間の運動負荷の後に、後肢を μ CT にて解析したところ、APP^{NL-F}-KI マウスでは、後肢長管骨内の骨量減少だけでなく、膝関節軟骨下骨と脛骨皮質骨に多数の微細骨折が存在することが判明した。このマウスの血液と膝軟骨下骨を採取し、遺伝子発現網羅解析とそれに基づく Gene Set Enrichment 解析(GSEA)を実施した結果、APP^{NL-F}-KI の血液中では Transcription corepressor 遺伝子群が顕著に減少する一方、膝軟骨下骨で

はアポトーシス関連遺伝子群の発現が上昇していることが明らかとなった(図3)。アルツハイマー病発症によって血中の何らかの細胞群で転写が抑制的に制御され、軟骨下骨ではアポトーシスによる細胞死が誘発されて、軟骨下骨の微小骨折を発生させた可能性が示唆された。



細胞死が誘発されて、軟骨下骨の微小骨折を発生させた可能性が示唆された。

(2) SAM-P 老化促進モデルマウスを用いた解析

加齢に伴い大脳皮質や辺縁系が委縮し学習記憶障害を自然発症するが、ヒトの老人班や神経原線維変化は見られない SAMP8、SAMP10 マウスでは、48 週令雌マウスにおいてのみ、骨量減少傾向が見られた。そこで、若齢(8 週令)の SAMP8、SAMP10 マウスに卵巣摘出術による閉経後骨粗鬆症を誘導すると、正常マウスよりも早期に骨量が減少したが卵巣摘出術 8 週後には正常マウスと同等の骨量減少にとどまった。(1)の結果と併せて考えると、広義の認知症や学習・記憶障害が共通して骨量減少を引き起こすのではなく、APP^{NL-F}-KI マウスの Aβ沈着に特異的な骨量減少の原因があることが示唆された。

(3) 物理的脳損傷モデルマウスを用いた解析

酢酸誘発脳梗塞モデルマウスを作成し、脛骨切断による骨折治癒過程を解析したところ、酢酸誘発脳梗塞モデルマウスでは、骨折幹部を中心として膝関節から大腿骨に至る範囲で、μCT で検出できる異所性骨化が発生した。またこの現象は行動異常を発症していない APP^{NL-F}-KI マウスでは検出されず、一方、48 週令 SAMP8 雌マウスでも少ないながら検出された。頭部外傷や脊髄損傷後、または認知症患者は骨折治癒が早いことや異所性骨化が起こりやすいことの初めての証明となった。今後免疫・炎症応答の関与の有無を明らかにする必要があるが、頭部外傷が遠隔の骨モデリング/リモデリングの活発な部位で過剰に石灰化を引き起こすメカニズムの解明のための適切なモデルマウスを構築することに成功した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 Adili A, Kaneko H, Aoki T, Liu L, Negishi Y, Tomura J, Wakana S, Momoeda M, Arita H, Hada S, Shiozawa J, Kubota M, Someya Y, Tamura Y, Aoki S, Watada H, Kawamori R, Negishi-Koga T, Okada Y, Ishijima M. | 4. 巻 5 |
| 2. 論文標題 Anterior meniscus extrusion is associated with anterior tibial osteophyte width in knee osteoarthritis - The Bunkyo Health Study | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Osteoarthr Cartil Open | 6. 最初と最後の頁 1 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ocarto.2023.100364. | 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 Tsukasaki M, Komatsu N, Negishi-Koga T, Huynh NC, Muro R, Ando Y, Seki Y, Terashima A, Pluemsakunthai W, Nitta T, Nakamura T, Nakashima T, Ohba S, Akiyama H, Okamoto K, Baron R, Takayanagi H. | 4. 巻 1 |
| 2. 論文標題 Periosteal stem cells control growth plate stem cells during postnatal skeletal growth | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Nat Commun | 6. 最初と最後の頁 1 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-31592-x. | 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 Hosonuma M, Sakai N, Furuya H, Kurotaki Y, Sato Y, Handa K, Dodo Y, Ishikawa K, Tsubokura Y, Negishi-Koga T, Tsuji M, Kasama T, Kiuchi Y, Takami M, Isozaki T. | 4. 巻 60 |
| 2. 論文標題 Inhibition of hepatocyte growth factor/c-Met signalling abrogates joint destruction by suppressing monocyte migration in rheumatoid arthritis. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Rheumatology | 6. 最初と最後の頁 408-419 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatolog | 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 谷 聡二, 石川 紘司, 古賀 貴子, 工藤 理史, 松岡 彰, 丸山 博史, 山村 亮, 早川 周良, 関水 壮哉, 土谷 弘樹, 辻 まゆみ, 木内 祐二, 永井 隆士, 豊根 知明, 稲垣 克記 | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 抗RANKLモノクローナル抗体がマウス脊椎固定術モデルの骨癒合に及ぼす影響 | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Spine Research | 6. 最初と最後の頁 538-538 |
| 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 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 Dodo Yusuke, Chatani Masahiro, Azetsu Yuki, Hosonuma Masahiro, Karakawa Akiko, Sakai Nobuhiro, Negishi-Koga Takako, Tsuji Mayumi, Inagaki Katsunori, Kiuchi Yuji, Takami Masamichi | 4. 巻 133 |
| 2. 論文標題 Myelination during fracture healing in vivo in myelin protein zero (p0) transgenic medaka line | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Bone | 6. 最初と最後の頁 115225 ~ 115225 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2020.115225 | 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 Kurotaki Yutaro, Sakai Nobuhiro, Miyazaki Takuro, Hosonuma Masahiro, Sato Yurie, Karakawa Akiko, Chatani Masahiro, Myers Mie, Suzawa Tetsuo, Negishi-Koga Takako, Kamijo Ryutaro, Miyazaki Akira, Maruoka Yasubumi, Takami Masamichi | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Effects of lipid metabolism on mouse incisor dentinogenesis | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 10 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-61978-0 | 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 Kiyohara Shuichi, Sakai Nobuhiro, Handa Kazuaki, Yamakawa Tomoyuki, Ishikawa Koji, Chatani Masahiro, Karakawa Akiko, Azetsu Yuki, Munakata Motohiro, Ozeki Masahiko, Negishi-Koga Takako, Takami Masamichi | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Effects of N-methyl-d-aspartate receptor antagonist MK-801 (dizocilpine) on bone homeostasis in mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences | 6. 最初と最後の頁 131 ~ 138 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2020.03.003 | 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 Yamakawa Tomoyuki, Okamatsu Nobuaki, Ishikawa Koji, Kiyohara Shuichi, Handa Kazuaki, Hayashi Erika, Sakai Nobuhiro, Karakawa Akiko, Chatani Masahiro, Tsuji Mayumi, Inagaki Katsunori, Kiuchi Yuji, Negishi-Koga Takako, Takami Masamichi | 4. 巻 138 |
| 2. 論文標題 Novel gene Merlot inhibits differentiation and promotes apoptosis of osteoclasts | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Bone | 6. 最初と最後の頁 115494 ~ 115494 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2020.115494 | 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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Koji Ishikawa, Soji Tani, Nobuhiro Sakai, Yoshifumi Kudo, Hideyo Horiuchi, Hiromi Kimura-Suda, Masamichi Takami, Mayumi Tsuji, Katsunori Inagaki, Yuji Kiuchi, Takako Negishi-Koga |
| 2. 発表標題 Mouse model of uncoupled bone remodeling upon discontinuation of anti-RANKL antibody therapy |
| 3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 石川 紘司, 谷 聡二, 坂井 信裕, 高見 正道, 堀内 秀与, 木村 廣美[須田], 辻 まゆみ, 木内 祐二, 稲垣 克記, 根岸 貴子[古賀] |
| 2. 発表標題 抗RANKL抗体治療の中断による骨代謝破綻の機序 |
| 3. 学会等名 日本骨形態計測学会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|-----------------------------------------------|
| 1. 発表者名 飯田和章 |
| 2. 発表標題 パーキンソン病モデルマウスを用いたドパミン神経と骨代謝についての解析 |
| 3. 学会等名 日本骨形態計測学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--------------------------------|
| 1. 発表者名 山川 智之 |
| 2. 発表標題 破骨細胞に高発現する未同定遺伝子の解析 |
| 3. 学会等名 昭和学士会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 飯田 和章 |
| 2. 発表標題 マウスを用いたパーキンソン病における骨代謝制御の解析 |
| 3. 学会等名 昭和学会 |
| 4. 発表年 2020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 |
|---------|---------|
|---------|---------|