

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月30日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2009～2011

課題番号：21390054

研究課題名（和文）骨髄細胞を標的にした糖尿病性臓器障害の治療戦略

研究課題名（英文）Bone marrow cell abnormality and diabetic complications

研究代表者

藤宮 峯子 (FUJIMIYA MINEKO)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：10199359

研究成果の概要（和文）：糖尿病でおこる肝障害、腎障害、神経障害などの臓器障害が、骨髄幹細胞の異常に起因することを本研究で明らかになった。さらに骨髄ニッチを正常化することで糖尿病合併症を治癒に導くことが出来ることも分かった。

研究成果の概要（英文）：We successfully demonstrated that diabetic complications are derived from abnormality in bone marrow stem cells, and this finding leads the therapeutic strategies for diabetic complications by replacement of bone marrow niche.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2010年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
年度			
総計	8,700,000	2,610,000	11,310,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：細胞分化・組織形成

1. 研究開始当初の背景

申請者らは、糖尿病で起こる多臓器障害は骨髄幹細胞の異常で起こることを明らかにした。具体的には、高血糖が引き金になって骨髄幹細胞の異常が起こり、異常な骨髄由来細胞が肝臓や後根神経節などに遊走し、標的細胞に細胞融合を起こすことで相手の細胞をアポトーシスに導き、組織障害の原因になることを突き止めた (Kojima H, Fujimiya M et al. PNAS 2004, Terashima T, Fujimiya M et al. PNAS 2005, Fujimiya M et al. PNAS 2007)。

2. 研究の目的

1) 本研究では、糖尿病性腎障害においても同様の現象が起こっているかどうかを調べた。さらに、末梢臓器と細胞融合する骨髄細胞がどの lineage に属する細胞であるかを FACS, MACS を用いて検索した。

2) 骨髄幹細胞異常を骨髄ニッチの異常として捉え、骨髄幹細胞の入れ替え療法が可能かどうかを *in vivo*, *in vitro* の実験系で調べた。

3. 研究の方法

1) 雄 GFP マウスから骨髄細胞を単離し、放射線照射を行った雌 C57/BL6 に骨髄移植する。

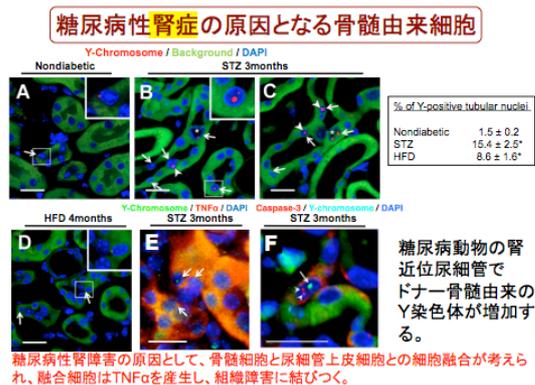
このマウスにSTZ投与、および高脂肪食摂取で糖尿病にし、腎臓から単離したGFP陽性細胞において発現する蛋白を定量的RT-PCRで調べる。また、腎尿管上皮細胞の免疫組織化学染色やFISHを行い、骨髓由来細胞と腎尿管上皮細胞との細胞融合を調べる。

2) 糖尿病マウスと非糖尿病マウスの骨髓細胞を単離し、osteoblastic niche cellと、最も未分化な造血幹細胞である long-term reconstituting HSC (LT-HSC) を FACS で分取する。それぞれの細胞の表面蛋白の発現を両群で比較する。

3) 臨床応用を考慮して、osteoblastic niche cell の入れ替えで、異常な LT-HSC が正常化し、臓器障害が治癒に導けるかどうかを実験的に調べる。

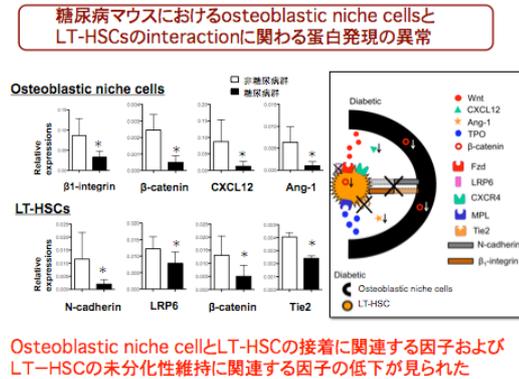
4. 研究成果

1) 糖尿病性腎障害モデル動物 (STZ 投与、および高脂肪食摂取マウス) において、骨髓由来 GFP 陽性細胞が腎尿管周囲の間質に多数集積した。GFP 陽性細胞の集積が顕著な部位の近位尿管上皮で、TNF α の産生が見られ、TNF α 陽性細胞は同時に Y-染色体陽性、かつ caspase3 陽性であった。この所見は、糖尿病性腎障害において、骨髓細胞と腎尿管上皮細胞の細胞融合がおり、融合細胞はアポトーシスに陥り尿管の破壊に繋がることを示唆するものである (下図参照)。(Yamashita T, Fujimiya M et al. FASEB J. 2012)

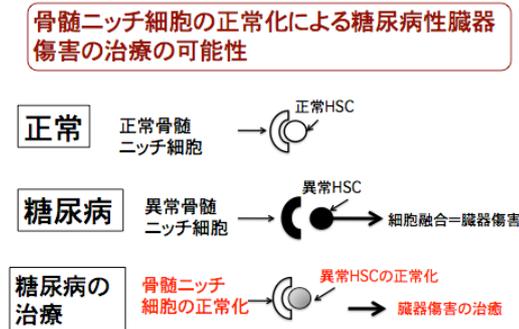


2) 糖尿病動物においては、osteoblastic niche cellで、 β 1-integrin、 β -catenin、angiopoietin-1、CXCL12などの発現に異常が認められ、LT-HSCではN-cadherin、 β -catenin、Tie2の異常が検出された。この結果より、糖尿病において、骨髓ニッチと

造血幹細胞の接着や相互作用に異常が生じ、その結果造血幹細胞の分化異常が起こることが分かった。さらに、分化異常を起こした造血細胞が末梢臓器細胞と細胞融合を起こし、臓器傷害の原因になることがわかった (下図参照) (Chiba et al., PLoS ONE in press)。



3) 糖尿病および非糖尿病マウス由来のosteoblastic niche cellとLT-HSCを単離、高血糖条件と正常血糖条件で1週間共培養を行った。糖尿病由来osteoblastic niche cellは高血糖条件で培養したときのみ生着し、正常動物由来のosteoblastic niche cellは正常血糖条件で培養したときのみ生着した。さらにOsteoblastic niche cellが生着する条件でのみ、LT-HSCが未分化性を維持することがわかった。糖尿病で異常になったLT-HSCは正常動物由来のosteoblastic niche cellと共培養することで正常化した。以上の所見は、骨髓のosteoblastic niche cellを入れ代えることで異常なLT-HSCを正常化できることを示唆するものである (下図参照) (Chiba et al., PLoS ONE in press)。この所見は、糖尿病合併症の治療戦略を考える点で、重要な所見と言える。



5. 主な発表論文等

(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 11 件)

1. Fujimiya M, Nagaishi K, Yamashita T, Ataka K. Bone Marrow Stem Cell Abnormality and Diabetic Complications. *Anat Rec* (Hoboken). 査読有 2012 in press doi: 10.1002/ar.22445.
2. Yamashita T, Fujimiya M, Nagaishi K, Ataka K, Tanaka M, Yoshida H, Tsuchihashi K, Shimamoto K, Miura T. Fusion of bone marrow-derived cells with renal tubules contributes to renal dysfunction in diabetic nephropathy. *FASEB J*. 査読有 2012; 26:1559-68
<http://www.fasebj.org/content/26/4/1559.long>
3. Oki G, Wada T, Iba K, Aiki H, Sasaki K, Imai S, Sohma H, Matsumoto K, Yamaguchi M, Fujimiya M, Yamashita T, Kokai Y. Metallothionein deficiency in the injured peripheral nerves of complex regional pain syndrome as revealed by proteomics. *Pain*. 査読有 2012;153: 532-9.
4. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Regulation of gastroduodenal motility: acyl ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin and hypothalamic peptides. *Digestion*. 査読有 2012; 85: 90-4.
<http://content.karger.com/ProdukteDB/produkte.asp?id=doi%3A10.1159%2F000334654>
5. Tanaka H, Arimura Y, Yabana T, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto H, Sasaki Y, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Myogenic lineage differentiated mesenchymal stem cells enhance recovery from dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. *J Gastroenterol*. 査読有 2011; 46: 143-52.
<http://www.springerlink.com/content/737w51v35p3633r5/?MUD=MP>
6. Koike M, Kojima H, Fujimiya M, Matsubayashi K, Aimi Y, Kimura H, Asai T. Transfer of Bone Marrow Progenitors Prevents Coronary Insufficiency and Systolic Dysfunction in the Mechanical Unloaded Heart in Mice. *J Surg Res*. 査読有 2011; 171: 47-57
7. Furness JB, Hunne B, Matsuda N, Yin L, Russo D, Kato I, Fujimiya M, Patterson M, McLeod J, Andrews ZB, Bron R. Investigation of the presence of ghrelin in the central nervous system of the rat and mouse. *Neuroscience*. 査読有 2011;193:1-9. PMID: 21835225
8. Fujimiya M, Ataka K, Asakawa A, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin on the gastrointestinal motility. *Peptides*. 査読有 2011; 32:2348-51.
9. Brevet M, Kojima H, Asakawa A, Atsuchi K, Ushikai M, Ataka K, Inui A, Kimura H, Sevestre H, Fujimiya M. Chronic foot-shock stress potentiates the influx of bone marrow-derived microglia into hippocampus. *J Neurosci Res*. 査読有 2010; 88: 1890-1897.
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.22362/abstract;jsessionid=B449EE6613C342DDEABFF776B96FC731.d01t02?systemMessage=W>

[iley+Online+Library+will+be+disrupted+on+9+J
une+from+10%3A00-12%3A00+BST+%2805%
3A00-07%3A00+EDT%29+for+essential+maint
enance](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.22362/abstract;jsessionid=B449EE6613C342DDEABFF776B96FC731.d01t02?systemMessage=W)

10. Asakawa A, Fujimiya M, Nijima A, Fujino K, Kodama N, Sato Y, Kato I, Nanba H, Laviano A, Meguid MM, Inui A. Parathyroid hormone-related protein has an anorexigenic activity via activation of hypothalamic urocortins 2 and 3. *Psychoneuroendocrinology*. 査読有 2010; 35: 1178-1186.
11. Fujimiya M, Asakawa A, Ataka K, Chen CY, Kato I, Inui A. Ghrelin, des-acyl ghrelin, and obestatin: regulatory roles on the gastrointestinal motility. *Int J Pept*. 査読有 2010 Epub 2010 Mar 15.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2915652/?tool=pubmed>

[学会発表] (計 5 件)

1. 藤宮峯子 「糖尿病でおこる骨髄幹細胞異常」第1回 細胞再生医療研究会 2011年7月31日 (神戸)
2. 藤宮峯子 「糖尿病合併症の原因となる骨髄幹細胞異常」第67回 日本顕微鏡学会 シンポジウム 2011年5月16日 (福岡)
3. 藤宮峯子 「骨髄幹細胞を標的にした糖尿病合併症の治療戦略」第35回 広島整形外科先端医学セミナー 招待講演 2010年11月17日 (広島)
4. 藤宮峯子 「骨髄由来ミクログリアと脳腸相関」第42回 消化管Motility研究会 特別講演 2010年7月21日 (神戸)
5. 藤宮峯子 「糖尿病合併症の原因となる骨髄幹細胞」第115回 日本解剖学会 シンポジウム 2010年3月28日 (岩手)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: Replacement of bone marrow niche cells for treatment of various diseases
発明者: 藤宮峯子、安宅弘司、千葉弘規
権利者: 札幌医科大学
種類: 米国特許
番号: 61/591,446
出願年月日: 2012年1月27日
国内外の別: 国外

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤宮峯子 (FUJIMIYA MINEKO)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号：10199359

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：