

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25514003

研究課題名(和文) 宇宙実験によるメダカ破骨細胞の重力感知・応答機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of gravity sensor for medaka osteoclast via space experiment

研究代表者

茶谷 昌宏 (Chatani, Masahiro)

昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：80628628

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：メダカの咽頭歯は骨代謝が盛んな組織である。独自に骨の細胞が光るメダカを作製し、国際宇宙ステーションにて解析した。1つ目は2ヵ月間の宇宙長期滞在飼育実験である。結果、骨を溶かす破骨細胞が活性し、咽頭歯骨の石灰化量が減少した。また破骨細胞ミトコンドリアの形態が異常となり、ミトコンドリア関連遺伝子「fkbp5」と「ddit4」が発現上昇した。2つ目は無重力環境の初期応答解析で、メダカの稚魚を生きのまま特殊なジェルに包埋し、8日間蛍光追跡を行った。その結果、骨芽細胞は打上げ後1日目から、破骨細胞は4日目と6日目で著しい増加が見られた。また次世代シーケンス解析により新規遺伝子5つの発現上昇を示した。

研究成果の概要(英文)：Space flight in a reduced gravity environment can have lasting effects on the body. For example, astronauts undergo a significant drop in bone mineral density during space mission, but the molecular mechanisms responsible for such changes in bone density are unclear. To identify the mechanisms, twice unique experiments were performed at international space station by using medaka fish. One was long-term experiment for analysis of bone growth during 2 months, resulting in the decrease of mineral density for pharyngeal teeth bones. Another was short-term experiment for live-imaging of transgenic medaka lines and transcriptome analysis during 8 days, resulting in the increase of the expression levels for 5 genes. Taken together, medaka fish studies give scientists a good starting point to figure out how the process actually occurs.

研究分野：骨生物学

キーワード：宇宙 骨 メダカ 破骨細胞 重力

1. 研究開始当初の背景

骨は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収により代謝される。そのバランスが壊れ、骨吸収側に傾くと骨粗鬆症などの骨疾患となり、骨量が減少する。それによく似た現象が宇宙で起きる。宇宙飛行士が宇宙で生活すると運動しても骨量が減少する。これには骨の代謝に重力が関与していることを示すが、そのメカニズムはわかっていない。そこで遺伝子改変して骨の細胞を見やすくしたメダカを実際に宇宙空間に打ち上げて実験を試みた。

2. 研究の目的

宇宙飛行に伴う微小重力下では、骨量低下が生じる。それは骨組織中のメカノストレス減退により骨芽細胞の骨形成と破骨細胞の骨吸収のバランスが崩れ、骨吸収が優勢になると考えられるが、そのメカニズムはわかっていない。それを明らかにするために、遺伝子を改変したメダカを宇宙ステーションに打ち上げ、実験を行う。特に骨形成と骨吸収のどちらが活性化するのか、細胞内ではどのような変化が生じるのか、遺伝子発現の変化に着目して実験を進める。

3. 研究の方法

破骨細胞と骨芽細胞が光って見える遺伝子改変メダカを作製した。そのメダカラインを国際宇宙ステーションへ打ち上げ、微小重力の骨代謝への影響を調べた。宇宙への打ち上げ実験は2回、別々の実験系で行った。一つは、2ヶ月間に渡る長期飼育実験で、行動観察、組織解析、そして遺伝子発現解析を行った。もう一つは短期飼育実験で、遺伝子改変メダカの稚魚を生きた状態で特殊なジェルに包埋し、宇宙ステーションに打ち上げ、8日間、蛍光顕微鏡観察。

4. 研究成果

地球上で進化した生物は生体組織の恒常性を維持する。骨もその代表の一つであるが、人が宇宙へ行くと重力がキャンセルされて骨量が減少することが報告されている。骨量減少の原因解明は、老人性骨粗鬆症の予防や長期の有人宇宙探査における重要な課題である。その解明のためには、培養細胞のみならず生物個体での観察・解析が必要である。メダカのノドに存在する咽頭歯は300本以上の歯が生え、1週間で新しい歯に生え変わる骨代謝が盛んな組織である。私達は独自に遺伝子改変することで骨の細胞が光るメダカを作製し、国際宇宙ステーションに打ち上げ、無重力による骨への影響を2つの方法で解析した。1つ目は2012年に実施された宇宙長期滞在飼育実験である。2ヶ月間の無重力環境の影響を調べるために、光る骨の細胞の蛍光解析と組織学的解析を行った結果、骨を溶かす破骨細胞が活性し、咽頭歯骨の骨量減少が明らかになった。また、破骨細胞のミトコ

ンドリアの形態が異常となり、ミトコンドリアに関連する2つの遺伝子「fkbp5」と「ddit4」の特異的な発現上昇を明らかにした。2つ目は2014年に実施された宇宙短期滞在実験である。無重力環境へ移動してからの細胞の初期応答を解析したもので、メダカの稚魚を生きのまま特殊なジェルに包埋し、8日間に渡って蛍光で光る細胞の追跡を行った。その結果、骨芽細胞は打上げ後1日目から顕著な蛍光シグナルの増加が見られ、破骨細胞は4日目と6日目で著しい増加が見られた。また次世代シーケンス解析により遺伝子発現レベルを調べた結果、骨関連以外の新規遺伝子5つの発現上昇を明らかにした。興味深いのはグルココルチコイドというストレス性ホルモンの作用で発現する遺伝子が多く含まれており、今後は宇宙とグルココルチコイドの関連性を調べることで研究を発展させる。

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6件)

1. Chatani M, Morimoto H, Takeyama K, Mantoku A, Tanigawa N, Kubota K, Suzuki H, Uchida S, Tanigaki F, Shirakawa M, Gusev O, Sychev V, Takano Y, Itoh T and Kudo A. Acute transcriptional up-regulation specific to osteoblasts/osteoclasts in medaka fish immediately after exposure to microgravity. *Scientific Reports*, 6, 39545, 1-14, (2016) 査読有
2. Mantoku A, Chatani M, Aono K, Inohaya K, Kudo A. Osteoblast and osteoclast behaviors in the turnover of attachment bones during medaka tooth replacement. *Developmental Biology*, 409, 370-81 (2016) 査読有
3. Takeyama K, Chatani M, Inohaya K, Kudo A. TGF- β 2 signaling is essential for osteoblast migration and differentiation during fracture healing in medaka fish. *Bone*, 86, 68-78 (2016) 査読有
4. Murata Y, Yasuda T, Watanabe-Asaka T, Oda S, Mantoku A, Takeyama K, Chatani M, Kudo A, Uchida S, Suzuki H, Tanigaki K, Shirakawa M, Fujisawa K, Hamamoto Y, Terai S, Mitani H. Histological and transcriptomic analysis of adult Japanese medaka sampled onboard the international space station. *PLOS ONE*, 10, e0138799, 1-16 (2015) 査読有
5. Chatani M, Mantoku A, Takeyama K, Abduweli D, Sugamori Y, Aoki K, Ohya K,

Suzuki H, Uchida S, Sakimura T, Kono Y, Tanigaki F, Shirakawa M, Takano Y and Kudo A. Microgravity promotes osteoclast activity in medaka fish reared at the international space station. *Scientific Reports*, 5, 14172, 1-13 (2015) 査読有

6. Takeyama K, Chatani M, Takano Y, Kudo A. In-vivo imaging of the fracture healing in medaka revealed two types of osteoclasts before and after the callus formation by osteoblasts. *Developmental Biology*, 394, 292-304 (2014) 査読有

〔学会発表〕(計 27 件)

招待講演

1. 茶谷昌宏, "Acute transcriptional control specific to osteoblasts/osteoclasts in medaka fish immediately after exposure to microgravity" 国際シンポジウム LIVING IN SPACE 2017 一橋講堂、東京 9th March, 2017
2. 茶谷昌宏, "骨関連遺伝子改変メダカを駆使した新たな生命科学研究" 京都大学再生医科学研究所、再生増殖制御学瀬原研究室、京都 2017年2月10日
3. 茶谷昌宏, "メダカは微小重力環境にどのような影響を受け、適応したのか" 宇宙生物学会第30回大会、愛知医科大学、長久手 2016年10月14日
4. Masahiro Chatani, The potential of medaka fish to uncover mechanisms of osteoclastogenesis, 13th Meeting of Bone Biology Forum, Communication 1, クロスウェブ幕張、千葉 2016年8月19日
5. 茶谷昌宏, 遺伝子改変メダカから考える骨代謝、第15回松本ポーンフォーラム、信州大学医学部付属病院 臨床講堂、松本 2016年5月27日
6. Chatani M, Takano Y, Todo T, Kudo A. "RANKL/OPG double knock-out medaka unveils the decision system for the osteoclast site in a whole-body" FishBone (魚類骨研究初の国際ミーティング), Harborview medical Center Seattle, Washington, USA, October 8, 2015
7. 茶谷昌宏, 宇宙へ行ったメダカ -城北学園卒業から宇宙実験へそしてこれから-

城北学園錬成期講演会、城北中学・高等学校 城北学園講堂、東京 2014年10月28日

8. 茶谷昌宏, メダカイメージングからみえてきた破骨細胞の分化メカニズム -変異体解析から宇宙実験まで-, 第286回松本歯科大学大学院セミナー、実習館2階総合歯科医学研究所セミナールーム、松本 2014年1月9日
9. 茶谷昌宏, 小型魚類を用いた破骨細胞のライブイメージング解析と2012年度の宇宙実験について、第10回松本ポーンフォーラム、信州大学、松本 2012年5月26日

学会発表

10. 茶谷昌宏, 萬徳晃子、武山和弘、畔津佑季、森本博也、伊藤武彦、谷川直樹、久保田幸治、鈴木ひろみ、内田智子、谷垣文章、白川正輝、高野吉郎、高見正道、工藤明 "トランスジェニックメダカを用いた骨関連重力応答性遺伝子の解析" 第2回日本骨免疫学会ウィンターセミナー ホテルマロウド軽井沢 長野 2017年1月26-28日
11. Masahiro Chatani, Kazushi Aono, Masamichi Takami, Akira Kudo, In-vivo behaviors of pre-osteoclasts in c-fms transgenic and knock-out medaka fish. 26th Australian and New Zealand Bone and Mineral Society Annual Scientific Meeting, Gold Coast Convention and Exhibition Centre, Australia, Poster 2016年8月1-24日
12. 茶谷昌宏, 北島未紀、高見正道、工藤明、TRAP ノックアウトメダカが示す ALP 活性化と骨形成の促進. 第34回日本骨代謝学会学術集会 大阪国際会議場、大阪 口演、2016年7月21-23日
13. 茶谷昌宏, 青野一志、高見正道、工藤明、c-fms トランスジェニックメダカと c-fms ノックアウトメダカの駆使により明らかになった生体内破骨前駆細胞の動態. 第34回日本骨代謝学会学術集会 大阪国際会議場、大阪 口演、2016年7月21-23日
14. 茶谷昌宏, 高見正道、遺伝子改変メダカを用いた骨研究. 第330回昭和大学歯学会例会 昭和大学歯科病院 第2臨床講堂、東京 口演、2016年6月25日
15. Chatani M, Takano Y, Todo T, Kudo A. "RANKL/OPG double deficient medaka

unveils the decision system for the bone resorption site in a whole-body” 米国骨代謝学会 2015 Washington State Convention Center, Seattle, Washington, USA, October 9-12, 2015 口演, 1044, Young Investigator Award 受賞

16. Masahiro Chatani, Akiko Mantoku, Kazuhiro Takeyama, Hiroya Morimoto, Takehiko Ito, Naoki Tanigawa, Koji Kubota, Hiromi Suzuki, Satoko Uchida, Fumiaki Tanigaki, Masaki Shirakawa, Yoshiro Takano, Akira Kudo. “Early response to microgravity in the analysis of whole transcriptome and live imaging” 米国骨代謝学会、2015、Washington State Convention Center, Seattle, Washington, USA, October 9-12, 2015 口演

17. 茶谷昌宏、高野吉郎、藤堂剛、工藤明 “OPG/RANKL ノックアウトメダカによる全身の骨吸収機構” 第 33 回日本骨代謝学会 京王プラザホテル、東京 2015 年 7 月 23-25 日 口演

18. 茶谷昌宏、萬徳晃子、武山和弘、森本博也、伊藤武彦、谷川直樹、久保田幸治、鈴木ひろみ、内田智子、谷垣文章、白川正輝、高野吉郎、工藤明 “微小重力環境における初期応答機構” 第 33 回日本骨代謝学会 京王プラザホテル、東京 2015 年 7 月 23-25 日 口演

19. 茶谷昌宏、横山達也、高野吉郎、藤堂剛、工藤明 “破骨細胞分化に關与するノックアウトメダカにおける全身の骨吸収像” 第 1 回日本骨免疫学会 ホテルブリーズベイマリーナ、宮古島 2015 年 6 月 30 日-7 月 2 日 口演 優秀演題賞受賞

20. Chatani M, Takano Y, Todo T, Kudo A. “The whole-body analysis employing RANKL-/- and OPG-/- medaka fish reveals the in vivo bone resorption system” 米国骨代謝学会 2014 George R. Brown Convention Center, Houston, Texas, USA, September 12-15, 2014 Poster, SA0190

21. Masahiro Chatani, Akiko Mantoku, Kazuhiro Takeyama, Kazuhiro Aoki, Yasutaka Sugamori, Keiichi Ohya, Satoko Uchida, Hiromi Suzuki, Toru Sakimura, Yasushi Kono, Fumiaki Tanigaki, Masaki Shirakawa, Keiji Inohaya, Dawud Abduweri, Yoshiro Takano and *Akira Kudo. “Rearing Medaka fish in international space station (ISS) for bone metabolism study” 米国骨代謝学会 2014 George R. Brown Convention Center,

Houston, Texas, USA, September 12-15, 2014 Poster, M00159

22. 茶谷昌宏、高野吉郎、藤堂剛、工藤明 “メダカを用いた RANKL/OPG のバランス破壊による新たな全身骨吸収機構の解明” 第 32 回日本骨代謝学会 大阪国際会議場、大阪 2014 年 7 月 24-26 日 口演 優秀演題賞受賞

23. 茶谷昌宏、萬徳晃子、武山和弘、青木和広、菅森泰隆、大谷啓一、内田智子、鈴木ひろみ、崎村徹、河野靖、谷垣文章、白川正輝、猪早敬二、Dawud Abduweri、高野吉郎、工藤明 “国際宇宙ステーション内メダカ飼育実験による、微小重力における骨代謝の解析” 第 32 回日本骨代謝学会 2014 年 7 月 24-26 日 大阪国際会議場、大阪 口演

24. 茶谷昌宏、萬徳晃子、武山和弘、青木和広、菅森泰隆、大谷啓一、内田智子、鈴木ひろみ、崎村徹、河野靖、谷垣文章、白川正輝、猪早敬二、Dawud Abduweri、高野吉郎、工藤明 “Bone loss in medaka under micro-gravity in Space station” 第 20 回小型魚類研究会 慶應義塾大学薬学部 芝共立キャンパス、東京 2014 年 9 月 20-21 日 口演

25. 武山和弘、茶谷昌宏、高野吉郎、工藤明 メダカ尾ヒレ骨折修復モデルの in vivo 解析:TGF による骨折修復初期の破骨細胞と骨芽細胞の誘導 第 32 回日本骨代謝学会学術集会 大阪国際会議場、大阪 2014 年 7 月 24 日(木)-26 日(土)

26. Akiko Mantoku, Masahiro Chatani, Keiji Inohaya, Akira Kudo “Tooth regeneration with the cooperative action of osteoclasts and osteoblasts” 破骨細胞と骨芽細胞の協調した働きによる歯再生 47th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists 第 47 回日本発生生物学 WINC AICHI、名古屋 2014 年 5 月 27-30 日

27. Chatani M, Ishikawa T, Todo T, Kudo A. “The *rankl* knock-out medaka exhibits a defective phenotype of bone resorption following abnormal organogenesis together with a small number of osteoclasts regulated by RANKL-independent osteoclastogenesis” 米国骨代謝学会 2013 Baltimore Convention Center, Baltimore, Maryland, USA October 4-7 2013 Poster, SU0258

[図書](計 3 件)

1. 茶谷 昌宏 "遺伝子改変メダカから見える骨代謝"骨粗鬆症治療(先端医学社)2017 vol.16 no.1 p56-62
2. 茶谷昌宏、工藤 明 “宇宙空間で飼育したメダカの骨量減少のメカニズムにせまる” バイオサイエンスとインダストリー誌 74 (2) P.126-128 バイオインダストリー協会 2016 年 3 月
3. 茶谷昌宏、工藤 明 “宇宙空間で生じる骨量減少メカニズムの解明” 細胞工学 Vol. 35 No.2 GRAPHIC HOT PRESS P154-155 秀潤社 2016 年 2 月

〔産業財産権〕
なし。

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 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
<https://sites.google.com/view/masahiro-chatani>

6. 研究組織

(1)研究代表者

茶谷昌宏 (Chatani, Masahiro)
昭和大学・歯学部・助教

研究者番号：80628628

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()