

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670637

研究課題名(和文)骨と脳のネットワーク - 成長を促進する骨由来因子の同定 -

研究課題名(英文)Clarification of the crosstalk between bone and brain.

## 研究代表者

大川 淳 (Okawa, Atsushi)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：30251507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨代謝におけるRAS系の役割を検討するために、RAS系の構成遺伝子を骨組織特異的に欠損したマウスを解析したところ、骨量の減少が認められた。本マウスでは、骨形成の低下が認められ、骨における骨形成マーカー遺伝子の発現低下を認めた。加えて、骨組織特異的CKOマウスでは、野生型マウスと比較して、体重の低下が認められた。骨組織におけるRAS系は、骨形成に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To evaluate the physiological role of renin-angiotensin system (RAS) in bone metabolism, we analyzed bone-specific RAS related gene deficient (CKO) mice. These mice showed low bone mass via decreasing of the bone formation, and the expression of bone formation markers in long bone were reduced. Furthermore, CKO mice decreased body weight compared with WT mice. These results suggest that RAS in bone metabolism regulates bone formation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：骨代謝 臓器連関

1. 研究開始当初の背景

これまでに申請者らは、脳（視床下部）が骨を調節することを世界に先駆けて解明し、「骨と他臓器間代謝ネットワーク」を提唱してきた（Cell 2000, 2002, Nature 2005, Nat Med 2007, Proc Natl Acad Sci USA 2009, Development 2010, Nat Med 2012, Nature 2013 など）。代謝恒常性維持の観点から考えると、骨から脳へのフィードバックによる情報伝達機構が必須であると考えられるが、その本態は未だ明らかではない。

RAS は血圧調節において重要な役割を果たしている。高血圧患者では骨量が減少するため、RAS は血圧調節以外にも、骨代謝調節の重要な役割を担っている可能性が推測されてきたが、その詳細は不明である。近年、RAS の構成因子の一つである ACE 2 が腸内環境の正常化に重要であり腸炎発生の予防に重要であることが報告された（Nature 2012）。このことは、RAS が血圧調節以外に、全身の臓器で生理機能の維持に重要な役割を担っていることを示唆している。

我々は、骨組織における RAS 系の機能を解明するために、骨組織特異的に RAS 系構成因子を欠損するマウスを作製した（CKO マウス）。

2. 研究の目的

本研究では、骨組織における RAS 系の役割を解明すること。

3. 研究の方法

(1)骨組織特異的 CKO マウスの解析

骨組織特異的 CKO マウスの骨組織を用いて、組織学的検討ならびに骨形態計測を実施した。

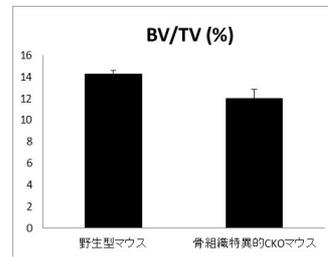
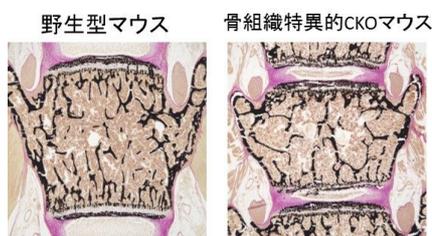
(2)骨組織における RAS 関連遺伝子の標的遺伝子の同定

CKO および野生型マウスから採取した骨組織から RNA を抽出し、網羅的遺伝子発現解析を実施した。

4. 研究成果

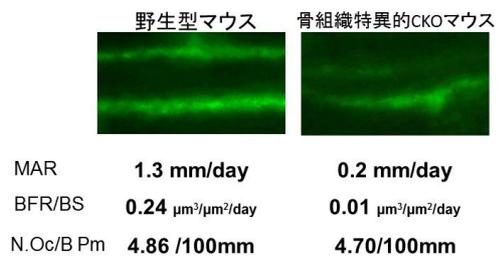
(1)骨組織特異的 CKO マウスの骨を組織学的に解析したところ、骨量の有意な減少が認められた（図 1）。

図 1



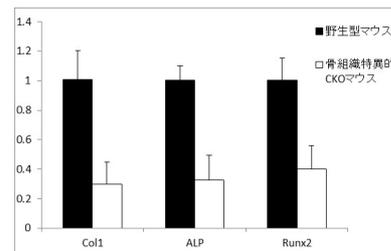
(2) 骨組織特異的 CKO マウスでは、破骨細胞数には差は認められなかった一方で、骨形成の低下が認められた（図 2）。

図 2



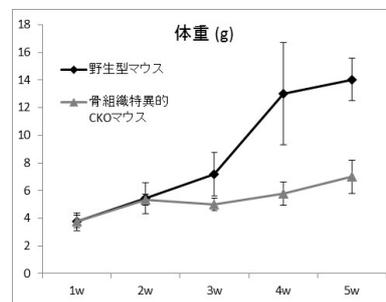
(3) 骨組織特異的 CKO マウスの骨から抽出した RNA を用いて Real time PCR を実施したところ、骨形成に関わるマーカー遺伝子の有意な発現低下が認められた（図 3）。

図 3



(4) 骨組織特異的 CKO マウスでは、野生型マウスと比較して体重の低下（痩せ）を示した（図 4）。

図 4



(4) 骨組織特異的 CKO マウスならびに野生型マウスから採取した骨組織から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析によって遺伝子発現を網羅的に解析した。野生型と比較して遺伝子発現が 2 倍以上変化した遺伝子を標的遺伝子とし、これらの標的遺伝子の mRNA 発現を

CKO マウスと野生型マウスで比較した。

以上の結果より、骨代謝において、RAS 系は骨形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。また、体重減少が認められたことから、全身性の代謝調節に何らかの因子を介して寄与している可能性が考えられ、さらに詳細な検討を実施する予定である。

#### 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 17 件)

1. Koyano G, Jinno T, Koga D, Hoshino C, Muneta T, Okawa A. Is closed suction drainage effective in early recovery of hip joint function? Comparative evaluation in one-stage bilateral total hip arthroplasty. J Arthroplasty. 査読有, 2015 Jan;30(1):74-8.
2. Oh Y, Wakabayashi Y, Kurosa Y, Fujita K, Okawa A. Potential pathogenic mechanism for stress fractures of the bowed femoral shaft in the elderly: Mechanical analysis by the CT-based finite element method. Injury. 査読有, 2014, Nov;45(11):1764-71.
3. Taniyama T, Hirai T, Yoshii T, Yamada T, Yasuda H, Saito M, Inose H, Kato T, Kawabata S, Okawa A. Modified K-line in magnetic resonance imaging predicts clinical outcome in patients with nonlordotic alignment after laminoplasty for cervical spondylotic myelopathy. Spine (Phila Pa 1976). 査読有, 2014 Oct 1;39(21):E1261-8.
4. Yuasa M, Mignemi NA, Barnett JV, Cates JM, Nyman JS, Okawa A, Yoshii T, Schwartz HS, Stutz CM, Schoenecker JG. The temporal and spatial development of vascularity in a healing displaced fracture. Bone. 査読有, 2014 Oct;67:208-21.
5. Yoshii T, Ueki H, Kato T, Tomizawa S, Okawa A. Severe kyphotic deformity resulting from collapses of cemented and adjacent vertebrae following percutaneous vertebroplasty using calcium phosphate cement. A case report. Skeletal Radiol. 査読有, 2014 Oct;43(10):1477-80.
6. Nakajima M, Takahashi A, Tsuji T, Karasugi T, Baba H, Uchida K, Kawabata S, Okawa A, Shindo S, Takeuchi K, Taniguchi Y, Maeda S, Kashii M, Seichi A, Nakajima H, Kawaguchi Y, Fujibayashi S, Takahata M, Tanaka T, Watanabe K, Kida K, Kanchiku T, Ito Z, Mori K, Kaito T, Kobayashi S, Yamada K, Takahashi M, Chiba K, Matsumoto M, Furukawa K, Kubo M, Toyama Y; Genetic Study Group of Investigation Committee on Ossification of the Spinal Ligaments, Ikegawa S. A genome-wide association study identifies susceptibility loci for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine. Nat Genet. 査読有, 2014 Sep;46(9):1012-6.
7. Araya N, Inose H, Kato T, Saito M, Sumiya S, Yamada T, Yoshii T, Kawabata S, Okawa A. Spinal deformity caused by hyperimmunoglobulin E syndrome: clinical article. J Neurosurg Spine. 査読有, 2014 Aug;21(2):292-5.
8. Oh Y, Wakabayashi Y, Kurosa Y, Ishizuki M, Okawa A. Stress fracture of the bowed femoral shaft is another

- cause of atypical femoral fracture in elderly Japanese: a case series. *J Orthop Sci*. 査読有, 2014 Jul;19(4):579-86.
9. Sawamura C, Matsumoto S, Shimoji T, Okawa A, Ae K. How long should we follow patients with soft tissue sarcomas? *Clin Orthop Relat Res*. 査読有, 2014 Mar;472(3):842-8.
  10. Hirai T, Enomoto M, Kaburagi H, Sotome S, Yoshida-Tanaka K, Ukegawa M, Kuwahara H, Yamamoto M, Tajiri M, Miyata H, Hirai Y, Tominaga M, Shinomiya K, Mizusawa H, Okawa A, Yokota T. Intrathecal AAV serotype 9-mediated delivery of shRNA against TRPV1 attenuates thermal hyperalgesia in a mouse model of peripheral nerve injury. *Mol Ther*. 査読有, 2014 Feb;22(2):409-19.
  11. Arai Y, Hirai T, Yoshii T, Sakai K, Kato T, Enomoto M, Matsumoto R, Yamada T, Kawabata S, Shinomiya K, Okawa A. A prospective comparative study of 2 minimally invasive decompression procedures for lumbar spinal canal stenosis: unilateral laminotomy for bilateral decompression (ULBD) versus muscle-preserving interlaminar decompression (MILD). *Spine (Phila Pa 1976)*. 査読有, 2014 Feb 15;39(4):332-40.
  12. Ukegawa D, Kawabata S, Sakaki K, Ishii S, Tomizawa S, Inose H, Yoshii T, Kato T, Enomoto M, Okawa A. Efficacy of biphasic transcranial electric stimulation in intraoperative motor evoked potential monitoring for cervical compression myelopathy. *Spine (Phila Pa 1976)*. 査読有, 2014 Feb 1;39(3):E159-65.
  13. Horie M, Enomoto M, Shimoda M, Okawa A, Miyakawa S, Yagishita K. Enhancement of satellite cell differentiation and functional recovery in injured skeletal muscle by hyperbaric oxygen treatment. *J Appl Physiol* (1985). 査読有, 2014 Jan 15;116(2):149-55.
  14. Yoshii T, Yamada T, Hirai T, Taniyama T, Kato T, Enomoto M, Inose H, Sumiya S, Kawabata S, Shinomiya K, Okawa A. Dynamic changes in spinal cord compression by cervical ossification of the posterior longitudinal ligament evaluated by kinematic computed tomography myelography. *Spine (Phila Pa 1976)*. 査読有, 2014 Jan 15;39(2):113-9.
  15. Sasaki K, Inose H, Kawabata S, Yoshii T, Kato T, Saito M, Okawa A. Combined surgical and radiosurgical treatment for a symptomatic cervical paraganglioma: a case report. *BMC Res Notes*. 査読有, 2013 Dec 1;6:494.
  16. Yamada T, Yuasa M, Masaoka T, Taniyama T, Maehara H, Torigoe I, Yoshii T, Shinomiya K, Okawa A, Sotome S. After repeated division, bone marrow stromal cells express inhibitory factors with osteogenic capabilities, and EphA5 is a primary candidate. *Bone*. 査読有, 2013 Dec;57(2):343-54.
  17. Piao J, Tsuji K, Ochi H, Iwata M, Koga D, Okawa A, Morita S, Takeda S, Asou Y. Sirt6 regulates postnatal growth plate differentiation and

proliferation via Ihh signaling. Sci  
Rep. 査読有, 2013 Oct 23;3:3022.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 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 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
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

大川 淳 (OKAWA, Atsushi)  
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・教授  
研究者番号：30251507

### (2) 研究分担者

麻生 義則 (ASA0, Yoshinori)  
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究  
科・准教授  
研究者番号：50345279

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：