

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：82404

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H01820

研究課題名(和文) 身体不活動で生じる炎症を介する運動器障害とその救済の分子機構

研究課題名(英文) Molecular Mechanisms of How Mechanical Stress Regulates Inflammation of Locomotive Organs

研究代表者

澤田 泰宏 (Sawada, Yasuhiro)

国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・その他部局等・臨床研究開発部長

研究者番号：50313135

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、身体に良い影響を与える「適度な運動」の分子メカニズムを探究した。骨における物理的力刺激(メカニカルストレス)を感知するとされる骨細胞で、Cas というタンパク質の発現を欠失させたマウスを作製して解析した。このマウスでは、炎症性タンパク質の活性が亢進し、骨吸収が促進された結果、骨量が低下し骨粗鬆症の状態を呈していた。培養骨細胞では、メカニカルストレスが加わるとCasが核内移行し、炎症性タンパク質の活性が低下し、骨吸収細胞機能促進因子の発現が低下した。以上の実験結果は、Casは適度な運動効果を担保するタンパク質であることを示す。

研究成果の概要(英文)：We investigated molecular mechanisms underlying the beneficial effects of physical exercise on our health. To this end, we generated genetically modified mice in which the expression of a protein called Cas was deleted in osteocytes, the mechanosensory cells in bones. This Cas KO mice exhibited severe osteoporosis caused by excessive bone resorption with hyperactivation of inflammatory proteins. When we applied mechanical stress on cultured osteocytes, Cas translocated into the nucleus, leading to inactivation of an inflammatory protein and decreased expression of a bone resorption-enhancing protein. These results suggest that Cas is responsible for mediating 'optimal exercise' effects.

研究分野：メカノバイオロジー

キーワード：メカニカルストレス 適度な運動 抗炎症・抗老化

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 高齢者で運動器の障害により要支援・要介護となるリスクの高い状態は、ロコモティブシンドローム (以下、ロコモ) と命名されている。ロコモ予防についての知見は極めて限定的であったが、ロコモ (運動器障害) → 身体不活動 → 運動器障害増悪という悪循環を断つ運動療法が推奨されている。しかし、これまでのところ最適な運動療法の指標は確定しておらず、その原因として運動 (身体活動) が運動器に与える効果・影響の背景にある分子メカニズムが分かっていないことが挙げられる。

(2) 代表者が細胞のメカノセンサーと報告した Cas に炎症を抑制する機能があることを見出していた。生体恒常性破綻を招く Cas の機能変容のメカニズムを明らかにして、これを修復できれば、不活動による運動器障害の治療法開発に繋げることができると考えた。

### 2. 研究の目的

運動 (身体活動) を、組織・細胞の物理機械的刺激感知機構 (メカノセンサー) に受容され、細胞・組織・器官の機能を修飾するメカニカルストレスとしてとらえ、身体活動による運動器機能維持の分子機構を解明する。これにより、身体不活動 → 運動器機能障害 → 身体不活動重篤化 → 運動器機能障害増悪という悪循環と、身体活動性回復によるこの悪循環からの救済のメカニズムを明らかにして、不活動による運動器障害を最小限とする治療法・介入法の開発に繋がる知見を得ることが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

(1) 骨細胞特異的に Cas の発現を欠失するコンディショナルノックアウト (Cas cKO) マウスの作製、表現型の検討。

骨細胞特異的 Cas cKO マウスを作製し解析したところ、顕著な骨量低下 (骨粗鬆症) が認められた (図 1)。そこで、このマウスにおける骨代謝異常の分子メカニズムを解析した。

(2) 身体不活動モデルマウス及び高齢マウスにおける Cas の機能変容の検討。

マウスの身体不活動モデルとして後肢神経切離による脱負荷 (unloading) 実験を行った。また、ヒトと同様にマウスにおいても加齢に伴い身体活動性が低下することが知られているので、高齢マウスの骨における Cas の機能変容を解析した。

(3) 培養骨細胞を用いたメカニカルスト

レス応答性の検討。

in vivo 実験、すなわちマウス実験で得られた知見の背景となる分子メカニズムを培養骨細胞株である MLO-Y4 を用いた細胞メカニカルストレス実験にて検討した。

### 4. 研究成果

(1) Cas cKO マウスにおける骨量低下の分子メカニズムについて

Cas cKO マウスでは、対照マウスと比較して

- 骨形成には差がないものの骨吸収が亢進していた。

- 骨細胞における破骨細胞分化促進因子 RANKL の発現促進が認められた。

以上の結果は、骨細胞における Cas による RANKL の発現抑制が骨吸収の抑制に重要な役割を果たしていることを示す。

(2) 身体不活動モデルマウス及び高齢マウスにおける Cas の機能変容について

- 後肢神経切離を行ったマウスの脛骨骨幹部における骨細胞では Cas が核外に局在した。

- 高齢マウスの脛骨骨幹部における骨細胞でも Cas が核外に局在した。

- Cas cKO マウスでは神経切離による骨吸収促進が認められなかった。

以上の結果は、骨細胞における Cas の細胞内局在、具体的には核内局在が身体活動 (骨への荷重) による骨吸収の抑制に重要な役割を果たしていることを示す。

(3) 培養骨細胞実験で得られた知見について

- 骨細胞株 MLO-Y4 にシアストレスを加えたところ Cas の核内局在が促進された。

- MLO-Y4 細胞において Cas の発現を減弱させたところ、活性酸素種産生の促進を介して RANKL の発現が促進された。

- Cas の発現を減弱させた MLO-Y4 細胞では細胞老化が促進された。

以上の実験結果は、骨細胞にシアストレスが加わると Cas が細胞質 (核外) から核内に移行し、活性酸素種産生抑制を介して RANKL の発現を低下させることを示す。

なお、上記、骨に関する研究の他に、不動性筋萎縮に関する実験も行った。不動性筋萎縮には局所のマクロファージの活性化が関与しており、エクササイズ (筋収縮) ではなくメカニカルストレスによる介入にて局所のマクロファージの活性を抑制すれば、不動性筋萎縮を抑制あるいは最小限にできることを示唆する知見を得ている。

### 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 16 件)

① Doi T, Sawada Y (6 名中 4 番目), et al. Chd7 collaborates with Sox2 to regulate activation of oligodendrocyte precursor cells after spinal

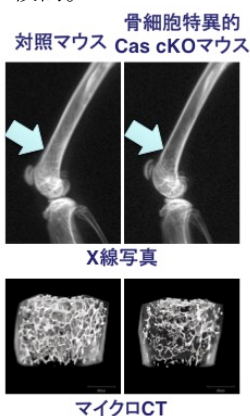


図1. 10週齢のマウス大腿骨切離による脱負荷 (unloading) 実験を行った。また、ヒトと同様にマウスにおいても加齢に伴い身体活動性が低下することが知られているので、高齢マウスの骨における Cas の機能変容を解析した。

- cord injury. *J Neurosci*. Epub ahead of print, 2017
- ② Ryu Y, Sawada Y (11名中8番目), et al. The swimming test is effective for evaluating spasticity after contusive spinal cord injury. *PLoS One*. 12(2):e0171937, 2017
- ③ Harada T, Sawada Y (7名中6番目), et al. Focal adhesion kinase promotes the progression of aortic aneurysm by modulating macrophage behavior. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 37(1):156-165, 2017
- ④ Ichihara Y, Sawada Y (6名中5番目), et al. Oligodendrocyte progenitor cells directly utilize lactate for promoting cell cycling and differentiation. *J Cell Physiol*. 232(5):986-995, 2017
- ⑤ Ebata T, Sawada Y (11名中8番目), et al. Substrate stiffness influences doxorubicin-induced p53 activation via ROCK2 expression. *Biomed Res Int*. 2017:5158961, 2017
- ⑥ 澤田泰宏. ストレッチの分子生物学 – メカノバイオロジーから眺めるアンチエイジング法としてのストレッチの可能性. *アンチ・エイジング医学*. 13(2):246-251, 2017 査読無
- ⑦ Hirata H, Sawada Y (14名中13番目、責任著者), et al. MEKK1-dependent phosphorylation of calponin-3 tunes cell contractility. *J Cell Sci*. 129(19):3574-3582, 2016
- ⑧ Zhao Z, Sawada Y (7名中ラスト), et al. Association between tensin 1 and p130Cas at focal adhesions links actin inward flux to cell migration. *Biol Open*. 5:499-506, 2016
- ⑨ Sawada Y, Ichihara Y, Harada I. Mechanical regulation and maintenance of organismal homeostasis – scientific basis for health promotion by physical motility and exercise. *Juntendo Medical Journal*. 2016 査読無
- ⑩ Nagao M, Ogata T, Sawada Y, Gotoh Y. Zbtb20 promotes astrocytogenesis during neocortical development. *Nat Commun*. 7:11102, 2016
- ⑪ Okazaki R, Sawada Y (11名中8番目), et al. The critical role of Erk2 in demyelinating inflammation of the central nervous system. *J Neuroinflammation*. 13:235, 2016
- ⑫ Onda A, Sawada Y (10名中6番目), et al. A new model of disuse-induced skeletal muscle atrophy using spiral wire immobilization. *Muscle Nerve*. 54(4):788-791, 2016
- ⑬ Shibahashi K, Sawada Y (11名中6番目), et al. The serum phosphorylated neurofilament heavy subunit as a predictive marker for outcome in adult patients after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 33(20):1826-1833, 2016
- ⑭ 澤田泰宏, 平田宏聡. p130Casを介する細胞のメカノ機能制御. *Clinical Calcium*. 26(12):1743-1749, 2016 査読無
- ⑮ 澤田泰宏. 運動器とメカニカルストレスの分子メカニズム: 治療的メカニカルスト

レスとは? *カレントセラピー*. 34(10): 55-60, 2016 査読無

- ⑯ 澤田泰宏. p130Casを介する細胞のメカノ機能と恒常性の制御. *医学のあゆみ*. 257(10):1031-1036, 2016 査読無
- [学会発表] (計9件)
- ① 生体へのメカニカルストレスとしての身体運動・スポーツ・理学療法. 2017年度生命科学系学会合同年次大会 (第39回日本分子生物学会年会 第90回日本生化学会大会). 神戸. 2017年12月
- ② メカニカルストレス応答を介する生体恒常性維持 – 障害性メカニカルストレスと治療的メカニカルストレス. 第39回日本分子生物学会年会. 横浜. 2016年12月
- ③ 「治療型」メカニカルストレスと「障害型」メカニカルストレス. 第31回日本整形外科学会基礎学術集会. 福岡. 2016年10月
- ④ 生体のメカノセンシングを介する恒常性維持 – 「善玉」メカニカルストレスと「悪玉」メカニカルストレス. 第43回日本生体電気・物理刺激研究会. 和歌山. 2016年3月
- ⑤ 「緊張型」と「緩和型」のメカニカルストレスによる生体恒常性維持. 第42回日本臨床バイオメカニクス学会シンポジウム – 細胞のバイオメカニクス. 東京. 2015年11月
- ⑥ Mechanical Regulation and Maintenance of Organismal Homeostasis – Scientific Basis for the Health Promotion by Physical Motility and Exercise. The 2nd Congress, International Academy of Sportology. 東京. 2015年9月
- ⑦ メカニカルストレスによる生体機能制御 – 恒常性維持に「善玉」あるいは「悪玉」として作用するメカニカルストレス. 第15回日本 Men's Health 医学会. 越谷. 2015年9月
- ⑧ Straining and Relaxing Mechanical Stresses Regulate Organismal Homeostasis. Bone Biology Forum. 幕張. 2015年8月
- ⑨ 生体恒常性維持における「善玉」メカニカルストレスと「悪玉」メカニカルストレス. 日本筋学会. 小平. 2015年8月

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 健康促進装置  
 発明者: 小西あおい, 秋下雅弘, 澤田泰宏, 柳泳在, 前川貴郊, 村瀬修平, 井上剛伸, 高嶋淳, 硯川潤  
 権利者: 株式会社甞蓑家  
 種類: 特許  
 番号: 特許願 2017-104095 号  
 出願年月日: 平成 29 年 5 月 26 日  
 国内外の別: 国内

○取得状況（計0件）

研究者番号：90171644

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

澤田 泰宏 (SAWADA, Yasuhiro)  
国立障害者リハビリテーションセンタ  
ー・研究所運動機能系障害研究部・部長  
研究者番号：50313135

### (2)研究分担者

本田 浩章 (HONDA, Hiroaki)  
東京女子医科大学・実験動物研究所先端生命  
医学専攻疾患モデル研究分野・教授  
研究者番号：40245064

### (3)研究分担者

宮崎 剛 (Miyazaki, Tsuyoshi)  
東京都健康長寿医療センター・研究所・研究  
員  
研究者番号：50376480

### (4)研究分担者

江面 陽一 (EZURA, Yoichi)  
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授  
研究者番号：50333456

### (5)研究分担者

原田 伊知郎 (HARADA, Ichiro)  
社会医療法人社団蛍水会名戸ヶ谷病院・名戸  
ヶ谷研究所・主任研究員  
研究者番号：00361759

### (6)研究分担者

矢野 文子 (YANO, Fumiko)  
東京大学・医学部附属病院・特任助教  
研究者番号：80529040

### (7)研究分担者

中田 雄一郎 (NAKATA, Yuichiro)  
広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教  
研究者番号：90793430

### (8)連携研究者

武田 伸一 (TAKEDA, Shin'ichi)  
独立行政法人国立精神・神経医療研究  
センター・神経研究所遺伝子疾患治療研究  
部・部長