

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08220

研究課題名(和文) 力学的因子により誘導される筋と骨のネットワークシステム

研究課題名(英文) Muscle and bone network system induced by mechanical factors

研究代表者

梶 博史 (KAJI, Hiroshi)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：90346255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：最近、骨格筋と骨の相互関連(筋・骨連関)が注目されている。私共はマウスを用いて、力学的因子の筋・骨連関に及ぼす影響を、網羅的遺伝子解析を手がかりとして検討した。その結果、重力変化は前庭系を介して筋量や骨量に影響をおよぼすこと、その作用に筋から産生される体液性因子としてフォリスタチンが関与すること、メカニカルストレスは、筋からのアイリシン産生を介して、骨密度を増加させる報告に作用することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The interactions between skeletal muscle and bone (muscle/bone relationships) have been recently noted. We investigated the influences of mechanical factors on muscle/bone relationships using the comprehensive gene analysis in mice. Our studies indicated the following conclusions: 1. Gravity change affects muscle and bone volume through the vestibular system. 2. Follistatin is involved in the effects of gravity change on muscle and bone as a humoral factor from muscle tissues. 3. Mechanical stress increases bone mineral density through the enhancement of irisin production from muscle.

研究分野：環境生理学

キーワード：骨格筋 骨 メカニカルストレス 重力 前庭系 フォリスタチン

1. 研究開始当初の背景

最近、サルコペニアや骨粗鬆症の臨床的認知を背景として、筋と骨の相互関連(ネットワーク)が注目されてきた。私共は、これまで臨床疾患を手がかりに筋と骨のネットワークを局所的な視点と全身的な視点を組み合わせて、局所の筋骨化に関わる因子として、Tmem119、Tmem176b、マトリックスメタロプロテアーゼ9を、骨に作用する筋由来体液性因子として、オステオグリシンとFAM5Cを新規に見出した。筋と骨は、遺伝因子、内分泌因子に同時に影響を受けるが、力学的因子による影響を最も受ける器官である。力学的因子による筋と骨のネットワークの調節が骨粗鬆症とサルコペニアに共通した病態基盤に寄与する可能性がある。しかし、力学的因子の筋・骨ネットワークへの影響については、これまで全く研究されていなかった。

2. 研究の目的

力学的因子の筋と骨の量や代謝におよぼす影響を、高重力負荷マウス、平衡能喪失マウス、不動およびビタミンD欠乏による病態モデルマウスを用いて、筋と骨のネットワークという観点から検討し、力学的因子の筋と骨におよぼす影響および新規の機構を見いだすことにより、力学的因子により誘導される新規の筋と骨のネットワークシステムを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 高重力負荷マウスを用いた力学的因子によって筋で産生される骨代謝調節因子の同定

特殊遠心装置を用いて過重力環境で飼育したマウスの筋と骨の遺伝子を網羅的に解析し、さらに前庭破壊を行うことにより、重力変化の筋・骨への作用における前庭系の関与を細胞および分子生物学的レベルで調べる。

(2) 不動状態の筋・骨ネットワークへの影響

3週間尾部懸垂および4週間両側坐骨神経切除により不動状態にしたマウスを用いて、重力やメカニカルストレスが低下した状態の抗重力筋筋量、脛骨骨密度、筋や骨の遺伝子や筋・骨連携因子への影響と関与する因子を同定する。

(3) ビタミンD欠乏病態の筋・骨ネットワークへの影響

ストレプトゾトシンによりマウスに糖尿病を誘発し、対照食とビタミンD欠乏食を与えたマウスの腓腹筋量や脛骨骨密度および筋・骨ネットワークに関わるマイオカインへの影響を検討する。

4. 研究成果

(1) マウスの実験で、3gの過重力は脛骨周囲部筋量、抗重力筋(ヒラメ筋)の筋重量、筋線維サイズ、筋分化遺伝子の発現と脛骨海綿骨量(体重補正)を増加させたが、前庭破壊群では、過重力による筋量と骨量の増加や筋重量、筋線維サイズ、筋分化遺伝子の発現変化が有意に阻害された。これらの結果より、過重力は前庭系を介して抗重力筋量と海綿骨量を増加させることが示された。過重力の前庭系を介した筋量への作用は、筋分化促進および筋線維サイズ増加を介することが示唆された。一方、2gの過重力による筋・骨への影響も検討したが、過重力は多くの筋分化遺伝子の発現に影響をおよぼさなかったが、脛骨における骨遺伝子の解析では、2週間の過重力によるアルカリホスファターゼ発現増加は前庭破壊によって有意に阻害された。この結果より、2gの過重力負荷は、前庭系を介する機序により骨芽細胞分化因子の発現を増加させることが示唆された。

(2) これまで報告されている数種のマイオカインの発現を上記のマウスで検討したところ、ヒラメ筋においてその発現が過剰重力によって増加し、その増加作用が前庭破壊によ

り解除される筋から産生される因子としてフォリスタチンが見出された。in vitro の実験により、マウス筋芽細胞株と骨芽細胞、破骨細胞形成系を用いて、フォリスタチンは筋細胞のタンパク合成系促進により筋量を増加させるのみならず、マイオスタチンの破骨細胞形成促進作用を阻害し、アクチビンの骨芽細胞分化を抑制することにより、骨の細胞にも骨量が増加する方向に影響をおよぼすことを見出した。

(3) 尾部懸垂および両側坐骨神経切除により不動状態にしたマウスモデルで、非荷重状態は筋量、海綿骨密度を減少させた。筋・骨連携マイオカイン発現解析では、非荷重により、アイリシン発現を減少させた。筋・骨連携因子発現と骨密度の関連を分析したところ、ヒラメ筋のアイリシン発現のみ、海綿骨密度と正相関を示した。In vitro の検討では、マウス筋芽細胞株において、剪断ストレスはアイリシン発現を増加させ、この増加は骨形成タンパク(BMP)あるいは PI3 キナーゼシグナルの阻害剤によって有意に抑制された。これらの結果より、非荷重による筋量と骨密度減少に、筋におけるアイリシン産生抑制が関与することが示唆された。また、メカニカルストレスは、筋において、BMP や筋タンパク合成系に関わる mTOR- PI3 キナーゼ系を介して、アイリシンの発現を増加させるものと考えられた。

(4)糖尿病マウスおよびビタミン D 欠乏マウスを用いて、マイオカインの発現を検討したところ、糖尿病により多くのマイオカインの発現は低下したが、ビタミン D 欠乏の影響は明らかではなかった。しかし、ビタミン D 欠乏は腓腹筋における糖尿病によるインスリン様成長因子-I と線維芽細胞増殖因子-2 の発現低下を有意に増強した。

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 12 件)

Shimoide T, Kawao N, Tamura Y, Okada K, Horiuchi Y, Okumoto K, Kurashimo S, Ishida M, Tatsumi K, Matsuo O, Kaji H. Role of macrophages and plasminogen activator inhibitor-1 in delayed bone repair in diabetic female mice.

Endocrinology(査読有) 159: 1875-1885, 2018.(doi: 10.1210/en.2018-00085.)

Kawao N, Moritake A, Tatsumi K, Kaji H. Roles of irisin in the linkage from muscle to bone during mechanical unloading in mice. Calcif Tissue Int (査読有)2018 Jan 13. doi: 10.1007/s00223-018-0387-3. [Epub ahead of print]

Tamura Y, Kawao N, Shimoide T, Okada K, Matsuo O, Kaji H. Role of plasminogen activator inhibitor-1 in glucocorticoid-induced muscle change in mice. J Bone Miner Metab (査読有) 36: 148-156, 2018.(doi: 10.1007/s00774-017-0825-8.)

Kawao N, Morita H, Obata K, Tatsumi K, Kaji H. Role of follistatin in muscle and bone alterations induced by gravity change in mice. J Cell Physiol(査読有) 233: 1191-1201, 2018.(doi: 10.1002/jcp.25986.)

Kawao N, Morita H, Nishida K, Obata K, Tatsumi K, Kaji H. Effects of hypergravity on the gene levels in anti-gravity muscle and bone through the vestibular system in mice. J Physiol Sci (査読有) 2017 Sep 7. doi: 10.1007/s12576-017-0566-4. [Epub ahead of print]

Moritake A, Kawao N, Okada K, Tatsumi K, Ishida M, Okumoto K, Matsuo O, Akagi M, Kaji H. Plasminogen activator

inhibitor-1 deficiency enhances subchondral osteopenia after induction of osteoarthritis in mice. BMC Musculoskelet Disord (査読有)18: 392, 2017. (doi: 10.1186/s12891-017-1752-5.)

Tamura Y, Fujito H, Kawao N, Kaji H. Vitamin D deficiency aggravates diabetes-induced muscle wasting in female mice. Diabetol Int (査読有) 8: 52-58, 2017.

Shimoide T, Kawao N, Tamura Y, Morita H, Kaji H. Novel roles of FKBP5 in muscle alteration induced by gravity change in mice. Biochem Biophys Res Commun (査読有) 479: 602-606, 2016. (doi: 10.1016/j.bbrc.2016.09.126.)

Kawao N, Morita H, Obata K, Tamura Y, Okumoto K, Kaji H. The vestibular system is critical for the changes in muscle and bone induced by hypergravity in mice. Physiol Rep (査読有) 4: e12979, 2016.

Okada K, Kawao N, Yano M, Tamura Y, Kurashimo S, Okumoto K, Kojima K, Kaji H. Stromal cell-derived factor-1 mediates changes of bone marrow stem cells during bone repair process. Am J Physiol Endocrinol Metab (査読有) 310: E15-23, 2016. (doi: 10.1152/ajpendo.00253.2015.)

Kaji H. Effects of myokines on bone. Bonekey Rep (査読有)5: 826,2016. (Invited review) (doi: 10.1038/bonekey.2016.48. eCollection 2016.)

Kaji H. Adipose tissue derived PAI-1 function and regulation. Compr Physiol (査読有)6: 1873-1896, 2016. Invited review (doi: 10.1002/cphy.c160004.)

〔学会発表〕(計 5件)

梶博史：シンポジウム 骨代謝研究の展望：基礎から臨床へ 骨と臓器ネットワーク研究の展望 第91回日本内分泌学会学術総会 2018年4月26日～4月28日 宮崎県宮崎市

梶博史：Update6 副甲状腺・骨代謝骨・筋連関の臨床的意義 第26回臨床内分泌代謝 UpDate 2016年11月18日～11月19日 埼玉県さいたま市

梶博史：シンポジウム2 骨代謝研究と骨粗鬆症研究の展開 Plasminogen activator inhibitor-1によるステロイド性糖尿病ならびに骨量減少制御 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 2016年10月13日～10月14日 福岡県福岡市

Kaji H. Symposium Bone I Biomarker in skeletomusucular system. Muscle-derived factor affecting bone metabolism. The 4th Seoul International Congress of Endocrinology and Metabolism (SICEM 2016). 2016.4.29~5.1. Seoul, South Korea

Kaji H. Symposium VI: Adaptations to microgravity. Gravity change and muscle/bone relationship. The 11th World Congress of the International Society for Adaptive Medicine. 2015.5.27~5.30. Yonago, Japan,

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梶 博史 (KAJI Hiroshi)
近畿大学・医学部・教授
研究者番号：90346255

(2) 研究分担者

河尾直之 (KAWAO Naoyuki)
近畿大学・医学部・講師
研究者番号：70388510