

令和元年6月18日現在

機関番号：17201

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06958

研究課題名(和文)メカノセンサーチャネル活性化は骨形成を促進するか

研究課題名(英文)Mechanosensitive ion channels in bone cells and bone formation

研究代表者

西山 めぐみ(Nishiyama, Megumi)

佐賀大学・医学部・助手

研究者番号：00802844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：骨粗鬆症・骨減少症では骨折から寝たきりに繋がることから、病態解明と治療法開発は高齢化社会において解決すべき重要課題の一つである。骨は常に力学的な負荷を感知し、負荷に適応した骨梁形態を整えている。無重力や寝たきりによる負荷の減少により骨減少が起こることから、骨の細胞は局所の力学負荷を感知していると考えられている。しかし骨が力学負荷にどう適応し活発にリモデリングを行うのか、分子実体は明らかでない。本研究において、マウス骨において骨形成に関わる骨芽細胞に力学負荷を感知する陽イオン透過性チャネルが強く発現した。さらに、病態モデルとの比較により骨基質形成に応じて機能していることが推察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではメカノセンサーイオンチャネルがマウス骨組織において骨形成を行う骨芽細胞に発現し、骨形成を活発に行っていると思われる細胞で強い発現をしていることを見いだすことが出来た。また、骨減少モデルにおいて、骨芽細胞における発現が低下していた。こうしたことから、骨代謝調節にこのメカノセンサーイオンチャネルが積極的に関わっている可能性が考えられ、骨減少性疾患の機構に関わることも想定される。今後、骨折の治療促進や骨減少を抑制する標的と捉えた研究を重ねることで将来の創薬標的となり得るかどうかが検討していく予定である。

研究成果の概要(英文)：Increasing number of patients who suffer aging related bone loss is a great burden in our society. However, the mechanisms of osteopenia and the treatment for regain bone tissues is still not clear. Bone tissues continuously remodel their structures in response to mechanical force and it is well known that reduced mechanical load or microgravity resulting bone loss. We hypothesized the cation channels are one of the candidate molecular target for sensing mechanical environment in bone tissues, and found out that bone forming cells, osteoblasts in mouse bone tissues expressed the mechanosensitive ion channels. We further observed decreased expression level in the osteoblasts of inflammatory animal bone loss model. We suggest mechanosensitive ion channels would take part in bone formations.

研究分野：整形外科学

キーワード：メカノセンサー イオンチャネル 骨形成 骨吸収 骨芽細胞 破骨細胞 骨粗鬆症 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症などの骨減少は、易骨折から寝たきりなどに繋がることから、その病態の解明と治療法の開発は高齢化社会において解決すべき重要な課題の一つである。骨は常に力学的な負荷を感知し、負荷に適応した骨梁形態を常に整えている。無重力や寝たきりなどによる負荷の減少、あるいは過度の負荷により骨量の減少が起こることは良く知られていることから、骨を構成する細胞は局所にかかる力学負荷を感知していると考えられている。しかし、骨組織が力学負荷にどのように適応し活発なリモデリングを行っているのか、その分子実体は未だ明らかとは言えない。

力学負荷を感知するメカノセンシングの分子実体として陽イオン透過性の Piezo チャンネルが 2010 年に同定され、力学的刺激の大きさに応じた電気的応答をすることが報告されている。そこで、この Piezo チャンネルが骨組織における力学刺激の受容に関わると想定した。

2. 研究の目的

力学的な負荷を感知するセンサーとして、Piezo チャンネルを標的としてマウス骨組織における発現様式を知ることで、骨形成との関連を明らかにする。また、報告されているメカノセンサー関連分子群との関連を調べる。さらに、炎症モデルにおいてそれらのメカノセンサーがどのように変化するのかを知ることで、骨減少機構への新たな理解に繋げる。

3. 研究の方法

実験には 6-10 週齢の雄性 C57BL/6N マウスを用いた。動物実験は、佐賀大学動物実験委員会の承認を得て動物福祉に配慮して行った。

Piezo チャンネルの特異的抗体を用いて、安楽死したマウスより骨組織を採取し、凍結切片作成装置により厚さ 5-10 μ m の切片を作製し免疫組織化学染色を施した。また骨組織よりタンパクを抽出し、免疫プロットングを行った。観察には、高精細のレーザー顕微鏡を用い、高解像度での解析可能な条件を確立した。さらに、骨代謝調節における機能を調べるために、正常動物に加えて炎症を惹起させた骨減少病態モデルマウスを作出し、その骨形態やメカノセンサーイオンチャンネルの発現様式の関係を検討した。

4. 研究成果

(1) 骨組織におけるメカノセンサー発現

免疫プロットングにより Piezo チャンネルの抗体が Piezo1 を認識せず Piezo2 特異的と判断される反応が得られることを確認した。免疫組織化学により、マウス大腿骨遠位端の海綿骨および皮質骨、軟骨、骨髄組織に Piezo2 の発現が認められた。Piezo2 は骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞に認められ、特に骨面上の骨芽細胞、一次海綿骨の骨梁表面、および皮質骨の骨内膜表面上に存在する骨芽細胞に強く発現していた。

(2) 骨芽細胞における細胞内小器官とメカノセンサーの関係

Piezo2 の骨芽細胞機能との関連を細胞内小器官マーカーとの多重染色により確認した。Piezo2 はアクチンフィラメント、ゴルジ装置、エンドゾーム、小胞体との共局在を示した。骨面上の骨芽細胞は、ゴルジ装置が球状に認められ、Piezo2 との共発現が顕著であった。

(3) 骨芽細胞の分化と Piezo2 発現

Piezo2 は皮質骨上の骨芽細胞に強い発現を認めたことから、骨芽細胞の分化との関連を調べた。骨芽細胞は類骨に向けて多数の細胞突起を伸展しており、その細胞突起において、Piezo2 発現が認められた。さらに突起内にはアクチン線維が存在しており、Piezo2 はアクチン線維上に存在していた。骨芽細胞は分化に伴い、Ⅰ型コラーゲンや E11 を発現する。Piezo2 発現細胞はⅠ型コラーゲンや E11 を有していた。

(4) 炎症モデルと骨組織におけるメカノセンサー発現

卵白アルブミン投与による喘息モデルでは骨減少が引きこされることを見出している。喘息モデルマウスの大腿骨では海綿骨量が減少し、骨面上の骨芽細胞における Piezo2 発現は健常群に比して少なかった。また、喘息モデルマウスの骨面上の骨芽細胞は健常群に比して扁平で類骨に向けた細胞突起の数が減少していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

高瑋琦、曹愛琳、西山めぐみ、吉本怜子、本田裕子、内野加穂、西田寛汰、田原愛理、村田祐造、城戸瑞穂 マウス骨組織におけるメカノセンサーイオンチャネルの発現と炎症 日本解剖学会第 74 回九州支部学術集会 2018 年 10 月 27 日 佐賀

高瑋琦、曹愛琳、吉本怜子、合島怜央奈、村田祐造、本田裕子、西山めぐみ、大崎康吉、城戸瑞穂 喘息モデルマウスの骨代謝調節とメカノセンサーチャネル 第 37 回分子病理学研究会 2018 年 7 月 7-8 日 佐賀

〔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：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。