

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：34408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K12068

研究課題名(和文) スフィンゴ脂質が骨代謝に及ぼすメカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Study of the mechanism of sphingolipids on bone metabolism

研究代表者

吉川 美弘 (YOSHIKAWA, YOSHIHIRO)

大阪歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：70434793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は糖尿病と歯周病の関連性を明らかにするために、糖代謝に大きく影響を及ぼすスフィンゴ脂質に着目した。今回の実験でスフィンゴ脂質の一つであるスフィンゴミエリンを合成する酵素は破骨細胞の分化を調節することが明らかとなった。今回得られた結果は、糖脂質代謝にスフィンゴミエリンが大きく関わっていることから、スフィンゴ脂質が糖尿病と歯周病の相互作用に影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の肥満症、メタボリックシンドローム患者の急増によって、インスリンを中心とした内分泌・エネルギー代謝の研究は世界中で盛んに行われており、申請者らは骨から産生するホルモンが糖脂質代謝に重要な役割をすることを明らかにするなど、骨組織を中心とした多臓器間ネットワークによる生理機能調節機構を明らかにしてきた。今回の結果はスフィンゴミエリンをターゲットにした糖尿病患者の歯周病治療応用へと展開する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the relationship between diabetes and periodontal disease, this study focused on sphingolipids, which have a significant effect on glucose metabolism. In this experiment, it was revealed that the enzyme that synthesizes sphingomyelin, which is one of the sphingolipids, regulates the differentiation of osteoclasts. It is suggested that sphingolipids may affect the interaction between diabetes and periodontal disease because sphingomyelin is significantly involved in glycolipid metabolism.

研究分野：骨代謝

キーワード：破骨細胞 骨代謝 スフィンゴ脂質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年の肥満症、メタボリックシンドローム患者の急増によって、インスリンを中心とした内分泌・エネルギー代謝の研究は世界中で盛んに行われており、申請者らは骨から産生するホルモンが糖脂質代謝に重要な役割をすることを明らかにするなど、骨組織を中心とした多臓器間ネットワークによる生理機能調節機構を解明した。(Yoshikawa et al, J Bone Miner Res 2011.)

(2) 糖尿病の発症原因の1つとして細胞内のスフィンゴ脂質の恒常性維持に重要な役割を担っているスフィンゴミエリン合成酵素(SMS)が欠失することを見いだした。糖脂質代謝にスフィンゴミエリンが大きくかかわっているため、スフィンゴミエリンが骨代謝に影響を及ぼすことを明らかにできれば、非常に特色のある研究になると思われる。また、申請者らが骨におけるスフィンゴミエリンの役割を解明することによって、糖尿病の原因究明の一助となり、さらに歯周病と糖尿病の関連の解明につながる。

2. 研究の目的

(1) スフィンゴミエリンは細胞膜上に脂質マイクロドメインと呼ばれる特殊なドメインを形成しており、スフィンゴミエリン自体が細胞外刺激複合体の細胞内取り込みや放出、膜受容体シグナル伝達の調節場として機能していることが報告されている。今回、私たちは役割が明確にされていない骨芽細胞におけるスフィンゴミエリン合成酵素(SMS)2に着目し、SMS2と骨芽細胞の機能発現との関連について検討する。

(2) 本研究は糖代謝と骨代謝の相互作用にどのようにSMSが関与しているかを明らかにし、スフィンゴミエリンをターゲットにした糖尿病患者の歯周病治療応用へと展開するための研究基盤を確立することが目的である。

3. 研究の方法

(1) 1日齢 ddY マウスの頭蓋冠から単離した骨芽細胞から SMS2 を siRNA にてノックダウンし、スフィンゴミエリン含有量を LC-MS / MS によって測定した。

(2) SMS2 をノックダウンした骨芽細胞と 6 週齢 ddY マウス脛骨より単離した骨髄細胞を 1,25(OH)₂D₃ 刺激下で共培養し、1 週間後 TRAP 染色を行った。また、SMS2 をノックダウンし、1,25(OH)₂D₃ で刺激したのち RANKL mRNA 発現を real-time PCR 法にて解析した。同様に VDR、RXR の mRNA とタンパク質発現をウエスタンブロットング法により解析した。

(3) RXR α をノックダウンした骨芽細胞と骨髄細胞を 1,25(OH)₂D₃ 刺激下で共培養し、1 週間後 TRAP 染色を行った。

4. 研究成果

(1) 骨芽細胞から SMS2 をノックダウンすると、細胞のスフィンゴミエリン含有量は減少した。

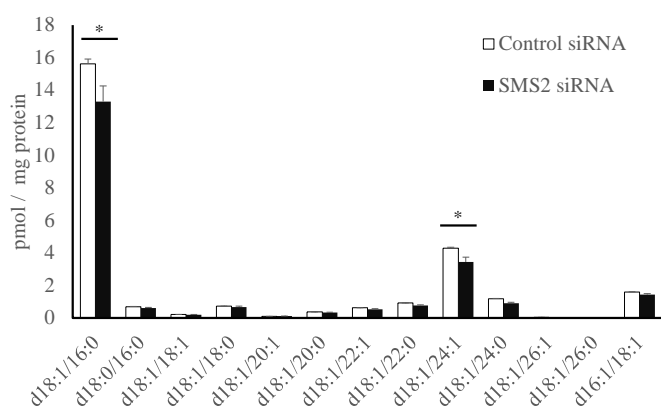


図 1

(2) 骨芽細胞から SMS2 を siRNA でノックダウンし、骨髓細胞と $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 刺激下で共培養し、1 週後 TRAP 染色を行い細胞数をカウントした。SMS2 ノックダウンにより、TRAP 染色陽性多核細胞数が減少した。

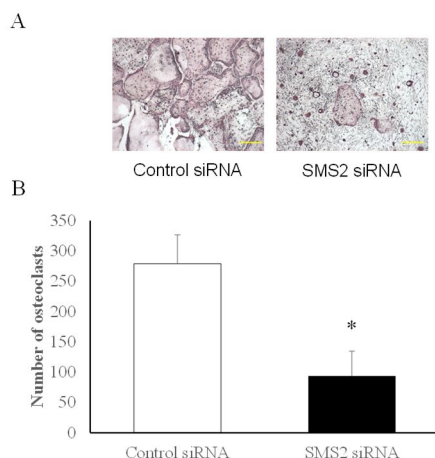


図 2

(3) 骨芽細胞から SMS2 を siRNA でノックダウンし、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 刺激下で破骨細胞分化因子である RANKL 遺伝子発現量を real-time PCR 法にて解析した。SMS2 ノックダウンで活性型ビタミン D3 刺激下での RANKL 遺伝子発現量が有意に減少した。

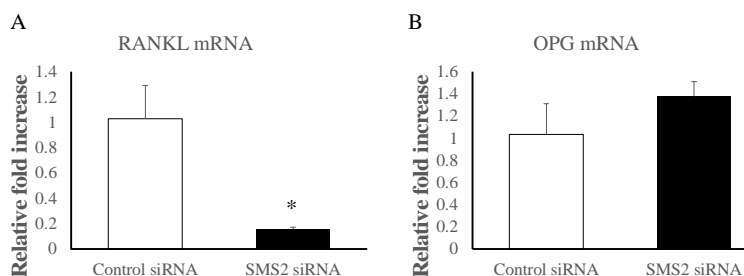


図 3

(4) 骨芽細胞から SMS2 を siRNA でノックダウンし、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 刺激下でビタミン D レセプター (VDR) および、VDR とヘテロダイマーを形成するレチノイン酸レセプター (RXR) α の遺伝子発現量とタンパク質発現をウエスタンブロット法により解析した。

VDR 遺伝子、タンパク質発現量において共に SMS2 ノックダウンで差を認めなかったが、RXR α 遺伝子、タンパク質発現量はともに有意に減少した。

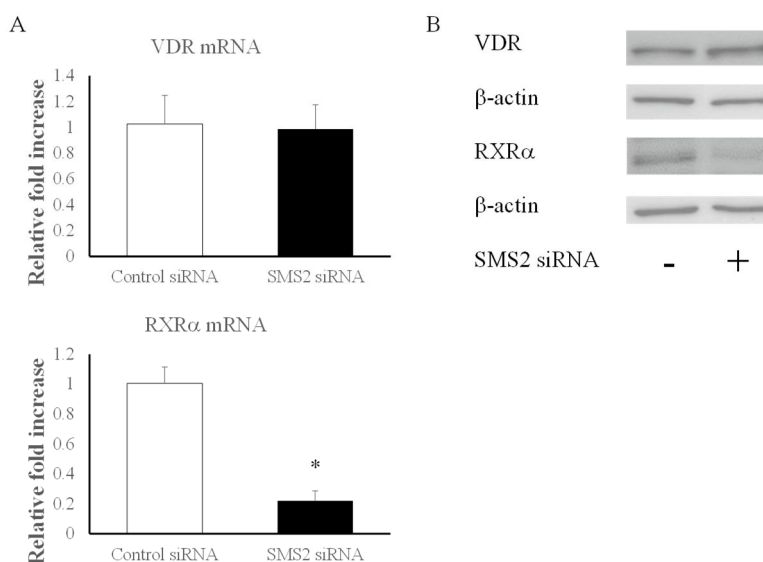


図 4

(5) 骨芽細胞から RXR α を siRNA でノックダウンし、骨髄細胞と 1,25(OH) $_2$ D $_3$ 刺激下で共培養し、1 週後 TRAP 染色を行い細胞数をカウントした。RXR α ノックダウンにより、TRAP 染色陽性多核細胞数が減少した。

以上の結果から、骨芽細胞の SMS2 は RXR α を介して RANKL の発現を制御することで、破骨細胞分化を調節している可能性が示唆された。

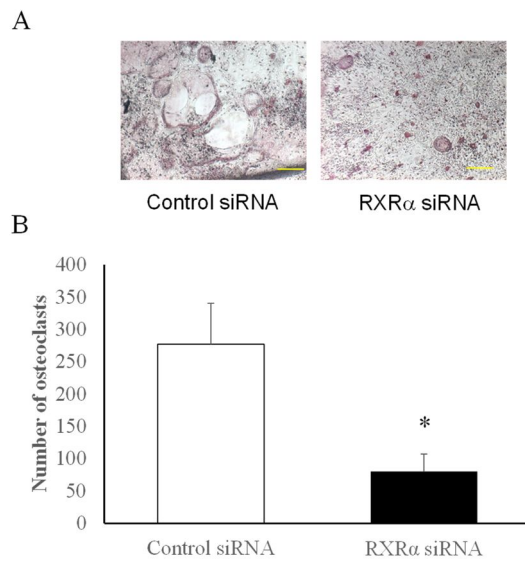


図 5

< 引用文献 >

Yoshikawa et al, J Bone Miner Res 2011 Sep;26(9):2012-25.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 YOSHIKAWA Yoshihiro, YOSHIZAWA Tatsuya, DOMAE Eisuke, HIRAI Yuya, KAMADA Aiko, OKAZAKI Toshio, IKEO Takashi	4. 巻 40
2. 論文標題 Knockdown of sphingomyelin synthase 2 inhibits osteoclastogenesis by decreasing RANKL expression in mouse primary osteoblasts	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 189 ~ 196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.40.189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Hirai Yuya, Domae Eisuke, Yoshikawa Yoshihiro, Okamura Hideyuki, Makino Akiko, Tomonaga Keizo	4. 巻 263
2. 論文標題 Intracellular dynamics of actin affects Borna disease virus replication in the nucleus	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Virus Research	6. 最初と最後の頁 179 ~ 183
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.virusres.2019.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 吉川美弘 津田 進 堂前英資 鎌田愛子 池尾 隆
2. 発表標題 Effect of β -cyclodextrin phosphate on the resorption ability of osteoclasts
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉川美弘、堂前英資、鎌田愛子、池尾 隆
2. 発表標題 骨芽細胞のSMS1は骨芽細胞分化を制御する
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	池尾 隆 (IKEO TAKASHI) (40159603)	大阪歯科大学・歯学部・教授 (34408)	
研究分担者	岡崎 俊朗 (OKAZAKI TOSHIRO) (40233308)	石川県立大学・生物資源環境学部・客員教授 (23303)	
研究分担者	吉澤 達也 (YOSHIZAWA TATSUYA) (40313530)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授 (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------