

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：27102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20998

研究課題名（和文）破骨細胞における糖質検知とその分化制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Glucose sensing in osteoclasts and the regulatory mechanism of their differentiation

研究代表者

安田 和真（Yasuda, Kazuma）

九州歯科大学・歯学部・特別研修員

研究者番号：10966641

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：T1R1, T1R2, T1R3の味覚受容体は口腔内だけでなく、さまざまな組織でエネルギーや栄養状態をモニタリングしT1R3機能喪失マウスではこれまでに高骨量を示すことが報告されてきましたがその詳細は不明のままです。本研究では破骨細胞におけるT1R3の機能を検討しました。T1R3を欠失した破骨細胞ではその分化能が減弱しました。一方でT1R3過剰発現により破骨細胞分化が促進され、グルコースや人工甘味料の添加でさらに増強されることを確認しました。驚くべきことにT1R3はグルコースをホモ2量体としてグルコースを受容し、MAPキナーゼを制御することで破骨細胞分化を促進している可能性があります。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、舌を中心とした口腔内に発現し味覚の受容を司るだけと思われていた味覚受容体が、破骨細胞にも発現し、その機能を明らかにすることができた本研究の価値は歯科領域だけにとどまらない。この学術的意味合いだけでなく、今後高血糖状態における骨吸収の活性化にT1R3が関与することを明らかにできれば、将来的にこれらT1R3は糖尿病や肥満における骨有害事象に対する治療標的になり得る。すなわち、T1R3は創薬のターゲットに適したGタンパク質共役型受容体であり、T1R3を治療標的とした骨代謝疾患治療薬開発に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：T1R1, T1R2, and T1R3 taste receptors monitor energy and nutritional status not only in the oral cavity but also in various tissues. It has been reported that mice with loss of T1R3 function show high bone mass, but the details remain unclear. In this study, we investigated the function of T1R3 in osteoclasts, and found that osteoclasts lacking T1R3 had reduced differentiation potential. On the other hand, overexpression of T1R3 promoted osteoclast differentiation, which was further enhanced by the addition of glucose or artificial sweeteners. Surprisingly, T1R3 may accept glucose as a homodimer of glucose and promote osteoclast differentiation via MAP kinase.

研究分野：小児歯科学

キーワード：骨代謝 破骨細胞

1. 研究開始当初の背景

(1) 骨ではリモデリング, すなわち破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が絶えず行われている (図1). このリモデリングが精巧に制御されることで骨の成長や歯の萌出や移動がおこる. 一方でリモデリングが破綻し, 骨吸収が骨形成を相対的に上回ることによって骨量が低下し, 歯周病や骨粗しょう症などの骨代謝性疾患が引き起こされる.

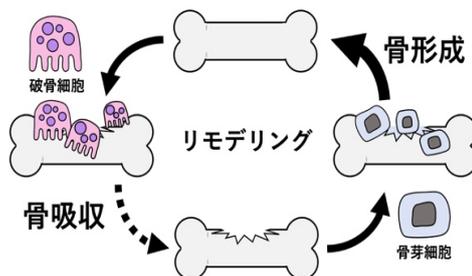


図1: 骨のリモデリング

(2) 肥満や糖尿病の程度と歯周炎による骨破壊の程度が一致することや (Kwack KH et al., 2021), 肥満や糖尿病患者では骨折のリスクが上昇することが知られている (Schwartz AV et al., 2001). しかし, これらを説明する分子メカニズムには不明な点が多く, さらに, 糖尿病や肥満による高血糖状態が破骨細胞や骨芽細胞に与える影響はほとんどわかっていない.

(3) 口腔に存在する味覚受容体 T1R2 と T1R3 のヘテロダイマーは, 糖質を受容すると甘味刺激として認識する (図2). 近年の研究から T1R2 と T1R3 が口腔粘膜以外でも糖質センサーとして機能し, さまざまな生命現象に関与することがわかってきた (図2).

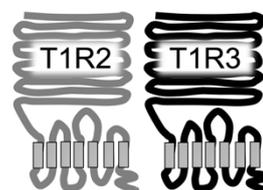


図2: 糖質センサー (甘味受容体)

(4) 骨においてもその存在が知られ, T1R3 の全身性ノックアウトマウス (KO) (Simmon BR et al., 2014) や機能喪失マウス (Eaton MS et al., 2018) に高エネルギー食を摂取させ肥満を起させると, 野生型に比べ骨量が維持される. しかし, これらのマウスにおいて骨吸収の低下による骨量維持の可能性が示唆されているものの (Eaton MS et al., 2018), 破骨細胞における T1R3 の機能は全く検討されていない. さらに, 骨を含めた口腔外に存在する T1R2 と T1R3 がヘテロダイマーを形成するかどうかは不明であり, 実際, 膵β細胞では T1R3 がホモダイマーとしてグルコースを受容し, 細胞内 ATP を増加させる (Nakagawa Y et al., 2014).

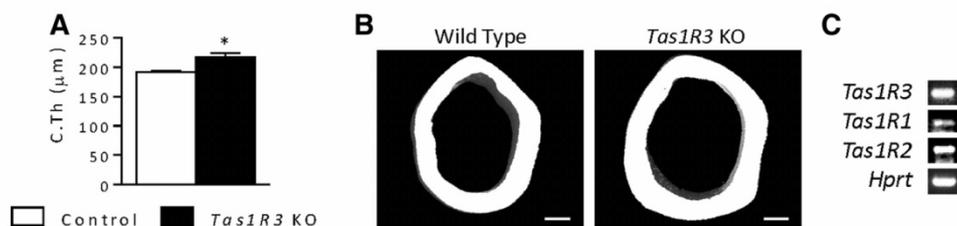


図3: T1R3(*Tas1r3*)の機能喪失マウスでは骨量が低下する((Eaton MS et al., 2018 より改変)

2. 研究の目的

- (1) T1R3 の各組織における発現を比較同定する.
- (2) 骨髄細胞, 脾臓細胞を構成する単一細胞レベルにおける T1R3 の発現を比較同定する.
- (3) 破骨細胞分化における T1R3 の機能を同定する.

3. 研究の方法

(1) データベース (<https://www.proteinatlas.org>) を用いてヒトにおける各臓器の T1R3 の mRNA の量を比較検討した.

(2) データベース (<https://www.proteinatlas.org>) を用いてヒトの骨髄および脾臓組織を構成する細胞クラスターにおける T1R3 の mRNA の量を比較検討した。

(3) 4 週齢雄の T1R3 コンベンショナルノックアウトマウス (Nu11) および野生型同腹子から採取した骨髄細胞を播種し、M-CSF、RANKL 添加により破骨細胞分化を誘導した。TRAP 染色や破骨細胞分化マーカーの発現量を real-time PCR 法で測定した。これらの実験は低グルコース、高グルコース条件下でそれぞれ行った。次に T1R2 と T1R3 がほとんど発現しない RAW264 細胞に対しアデノウイルスを用いて T1R3 を導入し、骨髄細胞と同様の方法で破骨細胞分化の誘導と評価した。

4. 研究成果

(1) T1R3 は、副睾丸で発現量が最も高く、脾臓でも高レベル、骨髄では中レベルの発現が認められた (図 4)。

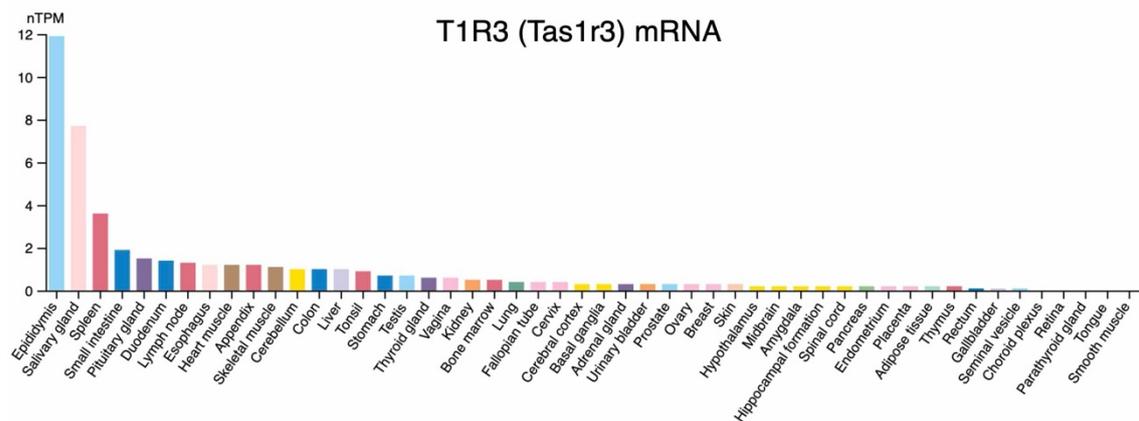


図 4: ヒト各組織における T1R3 (Tas1r3) の mRNA 量

(2) 単一細胞レベルでは脾臓および骨髄ともに B 細胞, T 細胞, 形質細胞のクラスターで発現していることが明らかとなった (図 5)。

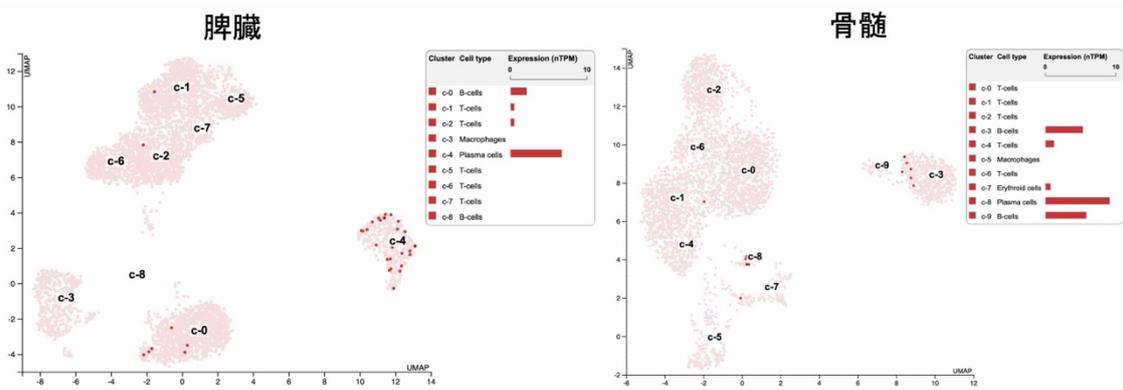


図 5: ヒト脾臓および骨髄における T1R3 (Tas1r3) の細胞クラスターレベルでの発現解析

(3) 破骨細胞では T1R1 および T1R2 はほとんど発現していなかった。T1R3 の発現量は破骨細胞分化とともに上昇した。T1R3 ノックアウトマウス由来細胞では TRAP 細胞陽性細胞数が減少した。同様に破骨細胞分化マーカーの発現量も減少していた。一方で、T1R3 の cDNA を過剰発現した RAW264 細胞は破骨細胞分化能が亢進した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsubara Takuma, Yasuda Kazuma, Mizuta Kana, Kawaue Hiroka, Kokabu Shoichiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Tyrosine Kinase Src Is a Regulatory Factor of Bone Homeostasis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5508 ~ 5508
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms23105508	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------