

平成30年6月21日現在

機関番号：33902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11061

研究課題名(和文) 骨細胞活動に神経制御は及んでいるか

研究課題名(英文) Does sympathetic nervous system regulate osteocyte function?

研究代表者

近藤 久貴 (Kondo, Hisataka)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：40469002

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：骨組織中に最も多く存在する骨細胞はReceptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)の発現を介して破骨細胞を制御する。私たちはこれまでに交感神経による骨芽細胞や破骨細胞の制御機構について報告した。そこで、本研究では交感神経系による骨代謝調節機構に骨細胞が関与するか検討を行った。まず、交感神経ニューロンと骨細胞が受容体を介して機能的に繋がることを確認した。そしてノルアドレナリンが交感神経受容体を介して、骨細胞によるRANKLの産生に影響を与えることが明らかとなった。以上、交感神経系は骨細胞のRANKL発現を直接制御し、骨代謝に影響を与えることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The osteocytes that are the most abundant in bone tissue control osteoclastic bone resorption through the expression of the receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL). We reported that sympathetic regulation of osteoblasts and osteoclasts. In this study, we examined whether osteocytes are involved in sympathetic regulation of bone metabolism. First, we confirmed that sympathetic neurons and osteocyte were functionally connected via adrenergic receptor and noradrenaline influences RANKL production by osteocytes via the adrenergic receptor. Thus, we suggested that the sympathetic nervous system directly controls RANKL expression of osteocytes and influences bone metabolism.

研究分野：骨代謝

キーワード：骨代謝 骨細胞

1. 研究開始当初の背景

骨芽細胞・破骨細胞に加え、骨細胞が骨代謝の中核的な役割を果たすことが明らかになってきた。我々はこれまでに交感神経が、骨芽細胞や破骨細胞を制御することで、骨代謝を調節することを報告している (Elefteriou et al. *Nature*. 2005., Kondo et al. *J Biol Chem*. 2005., Kondo et al. *Bone*. 2013.)。しかしながら、交感神経が骨細胞を直接制御するか否かは未だ十分には解明されていない。

2. 研究の目的

交感神経による骨代謝調節のメカニズムに骨細胞が関与するのか？また、関与するのであればどのように関与するのか検討する。

3. 研究の方法

我々はこれまでに神経節初代培養細胞と骨芽細胞の共培養システムを開発した (Obata et al. *FEBS Lett*. 2007)。本研究ではこの培養技術を応用し、交感神経節由来神経ニューロンと骨細胞を共存培養し、受容体のセカンドメッセンジャーである細胞内 Ca^{2+} 濃度を、カルシウムイメージングを利用し調べた。骨細胞様細胞として骨細胞様細胞株 ML0-Y4 (Kato et al. *J Bone Miner Res*. 1997)、交感神経ニューロンとしてマウス交感神経節由来細胞を用いた。この骨細胞と交感神経ニューロンとの共培養システムにサソリ毒を添加すると神経細胞特異的に興奮がみられる。骨細胞が単独で存在する場合、サソリ毒にて骨細胞の細胞内カルシウム濃度に変化は見られないが、骨細胞が交感神経ニューロンと接している場合、交感神経ニューロンの細胞内カルシウム濃度が上昇した後、骨細胞の細胞内カルシウム濃度の上昇がみられるはずである。我々は上述した骨細胞と交感神経ニューロンとの共培養システムを用いて、交感神経細胞と骨細胞の機能的なつながりについて検討した。

骨組織中に最も多く存在する骨細胞は Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の発現を介して破骨細胞による骨吸収を制御する。そこで、

骨細胞が交感神経ニューロンと機能的に繋がっていることが確認されたのち、交感神経の神経伝達物質であるノルアドレナリンを骨細胞に添加し、遺伝子発現がどのように変化をするか調べた。

歯の移動時に歯根周囲の破骨細胞が増加するがこれには骨細胞が産生する RANKL が重要な役割を担うことが知られている (Shoji et al. *Sci Rep*. 2017)。本研究を通して、1B 受容体は骨芽細胞、骨細胞に発現しているが、破骨細胞には発現していないことが明らかとなったので、1B 受容体の欠損動物および 1 受容体の作動薬、拮抗薬を投与した状態で、歯の移動の実験を行った。

4. 研究成果

私たちはこれまでに交感神経による骨芽細胞や破骨細胞の制御機構について報告した。そこで、本研究では交感神経系による骨代謝調節機構に骨細胞が関与するか検討を行った。まず、交感神経ニューロンと骨細胞が受容体を介して機能的に繋がることを骨細胞と交感神経ニューロンとの共培養システムにて確認した。そしてノルアドレナリンが交感神経受容体を介して、骨細胞による RANKL の産生に影響を与えることが明らかとなった。

マウス骨組織における交感神経受容体の発現を調べたところ、2 受容体は骨芽細胞、骨細胞、破骨細胞に発現していることが確認された。一方、

1B 受容体は骨芽細胞、骨細胞に発現しているが破骨細胞には発現していないことが確認された。

私たちはこれまでに実験的歯の移動が歯周組織の交感神経活動を亢進し、歯根周囲の破骨細胞を活性化し、歯の移動を促進すること。そして遮断薬プロプラノロールにて破骨細胞の活性化および歯の移動が抑制され、作動薬イソプレナリンにて歯の移動が促進されることを明らかにした (Bone. 2013; 52(1):39-47)。しかし、受容体が歯の移動に関与するかは調べていない。そこで、

受容体遮断薬、作動薬を投与した状態で実験的歯の移動を行った。そして 1 遮断薬プラゾシンにて破骨細胞の活性化および歯の移動が抑制され、

作動薬フェニレフリンにて歯の移動が促進されることを明らかにした。また、1B 受容体欠損マウスを用いて歯の移動実験を行ったところ、ブラゾシンと類似した結果が得られた。1B 受容体は破骨細胞には発現していないことから、1B 受容体を介した歯の移動時における破骨細胞の制御は骨細胞や骨芽細胞による RANKL 産生を介した影響と考えられる。

本研究により、骨細胞が交感神経系による制御を受けることが示唆された。

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 5 件)

(1) Kodama D, Hirai T, Kondo H, Hamamura K, Togari A, Bidirectional communication between sensory neurons and osteoblasts in an in vitro coculture system, FEBS Lett, 査読有, Vol.591, No.3, 2017, 527-539, DOI: 10.1002/1873-3468.12561.

(2) Tanaka K, Hirai T, Kodama D, Kondo H, Hamamura K, Togari A, 1B -Adrenoceptor signalling regulates bone formation through the up-regulation of CCAAT/enhancer-binding protein expression in osteoblasts, Br J Pharmacol, 査読有, Vol.173, No.6, 2016, 1058-69, DOI: 10.1111/bph.13418.

(3) Togari A, Kondo H, Hirai T, Kodama D, Arai M, Goto S, Regulation of bone metabolism by sympathetic nervous system, Nihon Yakurigaku Zasshi, 査読有, Vol.145, No.3, 2015, 140-145, DOI: 10.1254/fpj.145.140.

[学会発表](計 12 件)

林香里、近藤久貴、宮澤健、後藤滋巳、戸蒔

彰史、アドレナリン 1B 受容体ノックアウトマウスでは破骨細胞誘導抑制により実 的歯の移動が抑制される、第 34 回日本骨代謝学会学術集会、第 3 階アジア太平洋骨代謝学会議(国際学会) 2016 年 07 月 20 日 ~ 2016 年 07 月 23 日、大阪国際会議場(大阪府大阪市)

Yoshimi Nakayama, Hiroaki Toyoda, (Faculty advisor) Hisataka Kondo

Sympathetic neuron directly communicate with osteocytes and regulate RANKL expression via alpha 1 adrenergic receptor
平成 29 年度 スチューデント クリニシャン
リサーチ プログラム

2017 年

近藤久貴、豊田浩章、中山慶美、彰史
交感神 細胞による骨細胞制御
第 132 回日本 理学会近畿部会
2017 年

[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:

出願年月日:

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

近藤 久貴 (KONDO HISATAKA)

愛知学院大学・歯学部・講師

研究者番号：40469002

(2) 研究分担者

友寄 大介 (兒玉大介) (TOMOYOSE DAISUKE)

愛知学院大学・薬学部・講師

研究者番号：40549979

戸苅 彰史 (TOGARI AKIFUMI)

愛知学院大学・歯学部・教授

研究者番号：80126325

平居 貴生 (HIRAI TAKAO)

愛知学院大学・薬学部・准教授

研究者番号：80389072

浜村 和紀 (HAMAMURA KAZUNORI)

愛知学院大学・歯学部・准教授

研究者番号：00422767

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()