

令和元年6月19日現在

機関番号：32810

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10893

研究課題名(和文) 臨床応用を目指した骨組織における神経-血管機能の解明

研究課題名(英文) Functional analysis of neuro-vascular system in bone metabolism

研究代表者

福田 亨 (Fukuda, Toru)

東京聖栄大学・私立大学の部局等・教授

研究者番号：20301492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：Sema3Aは神経ガイダンス分子として機能するだけでなく、骨内への感覚神経投射を介して、骨代謝に影響することが明らかになっている。Sema3Aの機能をより詳細に検討するため、グリア細胞特異的Sema3AKOマウスおよび、Sema3Aの受容体であるNrp1の神経特異的KOマウスを作成し、骨組織の解析を行った。その結果、それぞれの組織特異的欠損マウスにおいて、骨量の低下が認められた。これらの結果から、グリア細胞由来のSema3Aも骨代謝に影響する可能性が考えられた。また、Sema3AはNrp1を介するシグナルで骨代謝を制御する可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨代謝を調節する因子として、数々のホルモンやサイトカイン、転写因子等の知見が蓄積され、骨関連疾患の治療薬や治療法の確立に寄与している。しかしながら、骨組織における血管-神経ネットワークの詳細な解析や、骨代謝に対する影響に関する研究はほとんど行われていない。本申請課題ではこれまで注目されていなかった血管-神経ネットワークという新たな視点から骨代謝調節を解明することを目的としている。また、本研究で得られた成果は、複雑な骨代謝調節機構の解明に寄与するだけでなく、骨関連疾患の治療薬や治療法の開発に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Sema3A has been shown not only to function as a axon guidance molecule but also to affect bone metabolism via sensory nerve innervation into bone. To investigate the function of Sema3A in more detail, glia-specific Sema3AKO mice and neuron-specific Nrp1 KO mice, a receptor for Sema3A, were generated. Analysis of bone tissue from each tissue-specific KO mouse revealed a decrease in bone mass in both tissue-specific KO lines. In addition, bone histomorphometry revealed a decrease in the number of osteoclasts in glia-specific KO mice. These results suggest that Sema3A derived from glial cells may also affect bone metabolism and Sema3A may regulate bone metabolism through Nrp1-mediated signals.

研究分野：骨代謝学

キーワード：骨代謝

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

1. 研究開始当初の背景

骨は運動・支持器官としての強度と血中カルシウム濃度の恒常性を保つため、一生涯にわたり形成と破壊を繰り返している。近年の高齢化社会の進展に伴い、骨粗鬆症や関節リウマチ、変形性関節症等、正常な骨代謝の破綻を起因とする疾患の患者数は飛躍的に増加しているが、その病態の解明や創薬研究については進展していない。そのため、骨代謝の分子メカニズムを解明し、その成果を臨床や創薬に還元することが社会的な急務となっている。

骨代謝は間葉系幹細胞を由来とする骨形成を担う骨芽細胞、単球マクロファージを由来とする骨吸収を担う破骨細胞および骨芽細胞に由来する骨細胞により調節されている。近年の分子生物学の進歩により、骨代謝研究は飛躍的に進展しており、骨代謝を担う各細胞群に対する種々のホルモンやサイトカイン類、転写因子等の重要性が明らかにされつつある。しかしながら、骨代謝には未解明な部分が多く、その全貌は未だに明らかとなっていない。

骨代謝はこれまでに、主として内分泌系を中心に考えられてきた。我々は新たな調節系として、神経ペプチドによる中枢神経系を介した骨代謝制御に着目し研究を行ってきた。その結果、脂肪組織由来ホルモンであるレプチンが、脳、交感神経系を介して骨形成を抑制すること、さらに、食欲抑制ペプチドの一種であるニューロメジン U が脳に作用して骨形成を抑制することなどを世界に先駆けて見出した (*Cell* 2000, 2002, *Nature* 2005, *PNAS* 2004, 2011, 2012, *Nat. Med.* 2007)。これら一連の解析による神経系を介した骨代謝調節機構の解明は、骨代謝のパラダイムシフトをもたらし、国際的にも高く評価を受けている。

一方、骨組織自体にも多くの血管や神経の存在が解剖学的に示されているが、骨組織における血管-神経ネットワークと骨代謝への関与については解析が進んでおらず、未解明な点が多い。最近、我々は神経ガイダンス分子である Semaphorine3A (Sema3A) の神経特異的ノックアウト (KO) マウスの骨組織において感覚神経の低下に伴う骨量減少を見出した (*Nature* 2013)。この成果は、感覚神経が単に感覚受容器として機能するだけでなく、骨量の調節機能を有していることを示している。最近、Sema3A はインテグリンの阻害により、胎生期での血管形成を調節すること、また、VEGF による *in vivo* での血管新生を抑制する等、神経ガイダンス分子としての機能だけでなく、血管新生にも関与することが明らかとなっている。血管-神経ネットワークの形成と機能発揮には両者の相互依存性が必要とされる。また、骨髄を含めた骨組織でも神経と血管の走行がほぼ一致していることから、血管-神経ネットワークが骨代謝に強く影響している可能性が考えられた。

2. 研究の目的

骨代謝は形成と吸収のバランス制御により恒常性が維持されている。近年の高齢化社会の進展に伴い、骨関連疾患の克服は喫緊の課題であるが、医薬応用につながる骨代謝調節の分子機構は不明のままである。我々はこれまでに神経系による骨代謝調節機構に着目し、骨組織における神経ペプチドの生理的意義を明らかにした Semaphorine3A (Sema3A) は神経反発因子として広く知られている。最近我々は、これまでの定説とは異なり、Sema3A が骨、皮膚をはじめとしたあらゆる臓器への神経系の浸潤を促進すること、Sema3A 神経特異的欠損マウスが感覚神経系の形成の低下による骨量の低下を呈することを見出した。また、予備的な検討から Sema3A 神経特異的欠損マウスでは、骨への血管の侵入が低下していることを見出した。そこで、本研究では、神経ガイダンス分子 Sema3A シグナルに着目し、個体レベルでの骨代謝調節における血管-神経ネットワークの機能解明を行うことで、骨粗鬆症をはじめとする骨関連疾患の克服を目指す。

3. 研究の方法

(1) グリア細胞特異的 Sema3A KO マウスの解析

神経特異的 Sema3A KO で見られた表現系をさらに詳細に解析するため、Sema3A flox マウスとグリア細胞特異的 Cr マウスである、GFAP (Glial fibrillary acidic protein) Cre を交配し、グリア細胞特異的 Sema3A KO マウスを作出した。得られたマウスの骨組織を用い、マイクロ CT による骨量の測定、および骨形態計測法を用いた骨代謝動態の解析を行った。

(2) 神経特異的 Nrp1 KO マウスの解析

骨代謝調節における Sema3A シグナルをさらに詳細に検討するため、Sema3A の細胞膜受容体である Nrp1 (Neuropilin) に着目した。Nrp1 flox マウスを用い、神経特異的 Cre 発現マウスである Nestin Cre マウスとの交配を行い、神経特異的 Nrp1 KO マウスの作出を行った。得られたマウスの骨組織を用い、上記 (1) 同様の方法にて、骨組織の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 作出したグリア細胞特異的 Sema3A KO マウス (12 週齢) の大腿骨を用い、マイクロ CT を用いた骨量解析を行ったところ、神経特異的 Sema3A KO マウスと同様の骨量の低下が認められた (図 1)。また、骨形態計測により骨代謝動態を検討したところ、骨形成速度、ミネラル沈着速度および、骨芽細胞に関するパラメーターに変化は認められなかったが、破骨細胞数の増加が認められた。さらに、グリア細胞特異的 Sema3A KO マウスより、初代培養骨芽細胞 (POB) を調整し、骨芽細胞分化マーカーである ALP (Alkali phosphatase) 活性を測定したところ、Control との有意な差は認められなかった。これらの結果から、グリア細胞由来の Sema3A も神

経特異的 Sema3A 同様、骨代謝に影響を及ぼすことが示唆された。

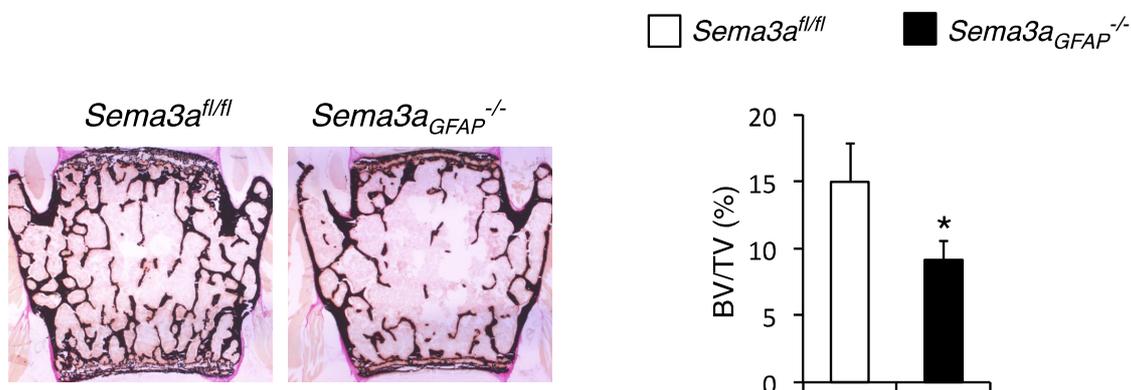


図1、グリア細胞特異的Sema3A KOマウスで認められた骨量の低下

(2) 12 週齢の神経特異的 Nrp1 KO の骨量を測定したところ、大腿骨骨量の有意な低下が認められた。また、骨形態計測による骨代謝動態の解析の結果、それぞれのパラメーターで有意な差は認められなかったものの、破骨細胞の低下傾向が認められた。以上の結果から、Sema3A は Nrp1 を介したシグナルにより、骨代謝に関与する可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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

(2)研究協力者

研究協力者氏名 : 竹田 秀

ローマ字氏名 : Shu Takeda

研究協力者氏名 : 佐藤 信吾

ローマ字氏名 : Shingo Sato

研究協力者氏名：越智 広樹

ローマ字氏名：Hiroki Ochi

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。