

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：44419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K11635

研究課題名(和文) Sorcinの細胞内局在と軟骨内骨化過程における細胞分化との関連性を明らかにする

研究課題名(英文) The relationship of Sorcin and endochondral ossification

研究代表者

山本 まりこ(河井まりこ)(Yamamoto-Kawai, Mariko)

関西女子短期大学・その他部局等・教授

研究者番号：40379839

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)：Ca結合因子であるSorcinの骨形成過程ならびに骨代謝における役割解明を目的とし、sorcin遺伝子欠失マウスと野生型のマウスとの比較検討を実施した。胎生期における比較では、遺伝子欠失マウスが野生型マウスと比較し、破骨細胞の活性が高まる可能性が示唆された。また、生後マウスの比較では、骨質が野生型と比較し、高まる傾向が認められた。さらに、アパタイト配向性は遺伝子欠失マウス脛骨において、野生型よりも高まる傾向があることが認められた。これらの結果から、Sorcinは骨形成過程ならびに骨代謝に関連する因子である可能性が高いことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成人における軟骨は生理的再生・増殖の難しい組織であり、病的な増殖を伴った変形性関節炎などは根本的治療薬はない。また、全身的に発現する因子を用いた治療薬は副作用を制御する上で困難を伴う。一方、われわれのSorcinによる軟骨細胞分化制御機構を利用し、病的な軟骨細胞の増殖・分化を調節することで、新たな軟骨疾患治療薬の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We conducted a comparative study between Sorcin gene-deficient mice and wild-type mice with the aim of elucidating the role of Sorcin, a calcium-binding factor, in the bone formation process and bone metabolism. In the comparison during the embryonic period, it was suggested that KO mice may have increased activity of osteoclasts compared to wild-type mice. Additionally, in the comparison of postnatal mice, there was a tendency for the bone quality to be higher in the KO mice compared to the wild-type mice. Furthermore, it was observed that the apatite orientation tended to be higher in the tibia of KO mice compared to wild-type mice. Based on these results, it became evident that Sorcin is likely to be a factor related to the bone formation process and bone metabolism.

研究分野：骨再生

キーワード：骨再生

1. 研究開始当初の背景

成人における軟骨は生理的再生・増殖の難しい組織であり、研究開始当初においては、病的な増殖を伴った変形性関節炎などの根本的治療薬がなかった。また、2016年には Notch シグナルが変形性関節炎の病態を制御するという報告がなされた(Hosaka Y et al., *PNAS*. 2013, Liu Z et al., *Sci. Signal*. 2016)。しかし、全身的に発現する Notch を用いた抑制作用薬は大きな副作用を引き起こす可能性があると考えられた。一方、われわれの想定する Sorcin 局在の違いによる軟骨細胞分化制御機構を利用し、これらのシグナル系を制御することで病的な増殖・分化を調節するという変形性関節炎の根本的治療薬という新たな軟骨疾患治療薬の開発が可能になると考えた。

2. 研究の目的

Ca 結合因子である Sorcin の軟骨内骨化過程における機能と役割を明らかにするため、われわれは Sorcin は軟骨細胞において細胞内局在を変化させることによって増殖・分化・成熟・これに続くアポトーシスといった軟骨細胞の細胞運命を制御し、軟骨内骨化過程に関与するという仮説を立て、この仮説を検証すべく、軟骨内骨化過程における Sorcin の細胞内局在の同定と *sorcin* 遺伝子欠失マウスと野生型マウスとの骨組織の比較検討から Sorcin の骨形成過程ならびに骨代謝における役割解明を目的とした。

3. 研究の方法

1) 骨端部成長板軟骨細胞における Sorcin の細胞内局在の同定: 骨端部成長板軟骨細胞における詳細な Sorcin 局在を免疫組織学的解析により同定する。

2) *sorcin* 遺伝子欠失マウスの骨組織の解析: *sorcin* 遺伝子欠失マウスと野生型マウスの胎生期ならびに出生後における骨組織の表現型を比較検討する。

4. 研究成果

1) マウス骨端部成長板における Sorcin の局在について

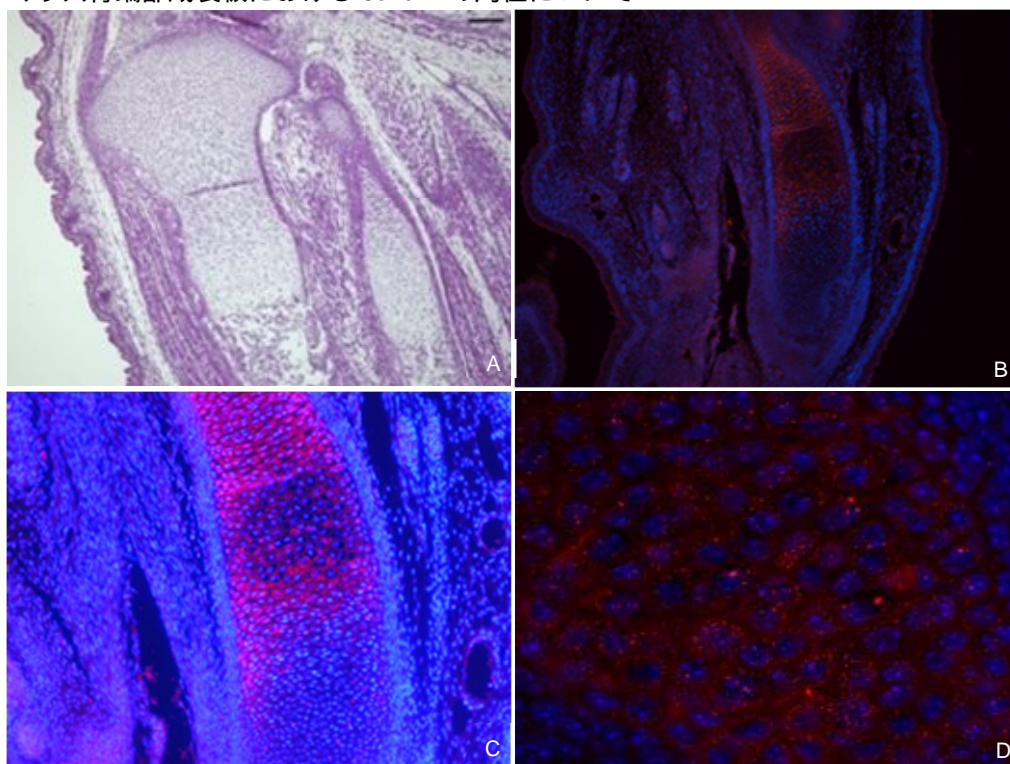


図1 マウス E16.5 脛骨骨端部軟骨における Sorcin の局在

マウス E16.5 胎生期脛骨骨端板軟骨部位における Sorcin の局在を免疫組織学的解析により観察したところ、マウス脛骨の骨端板軟骨に Sorcin 陽性細胞が多く認められた(図 1 B,C)。また、その細胞内における局在を解析したところ、Sorcin は細胞質から核膜へと移行している可能性が示唆された(図 1 D)。

2) *sorcin* 遺伝子欠失マウスにおける骨組織表現型

sorcin 遺伝子欠失マウスと野生型のマウスとの骨形成に関する比較検討を実施した。*sorcin* 遺伝子欠失マウスの胎生期 16.5 日における比較では、遺伝子欠失マウスが野生型マウスに比較し、体長が長く、脛骨の長径においても有意に野生型と比較し、差が認められた(図 2)。

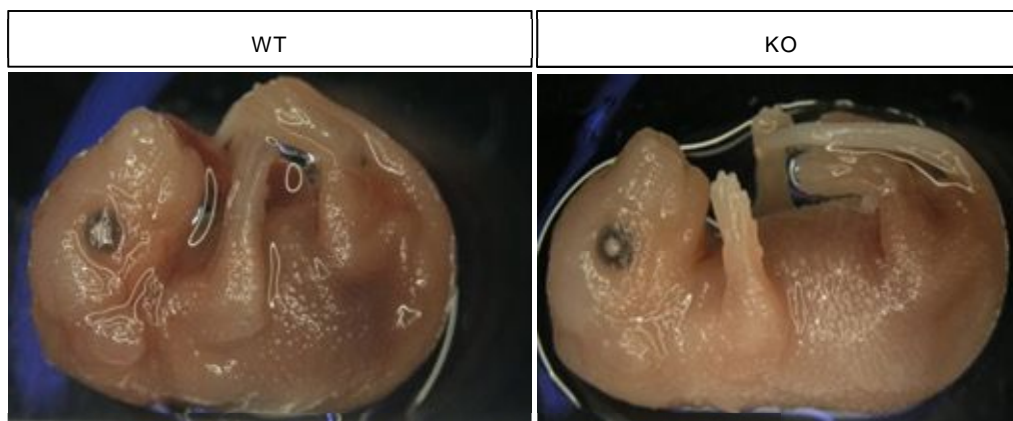


図 2 胎生 16.5 日における体長比較

組織学的解析により、TRAP 陽性細胞数を比較したところ、野生型と比較し、遺伝子欠失マウスにおいて有意な差を認めた(図 3)。また、脛骨骨端部成長軟骨部位を組織学的に観察したところ、野生型に比較し、欠失マウスではアポトーシス陽性細胞が減少傾向を示した(図 3)。

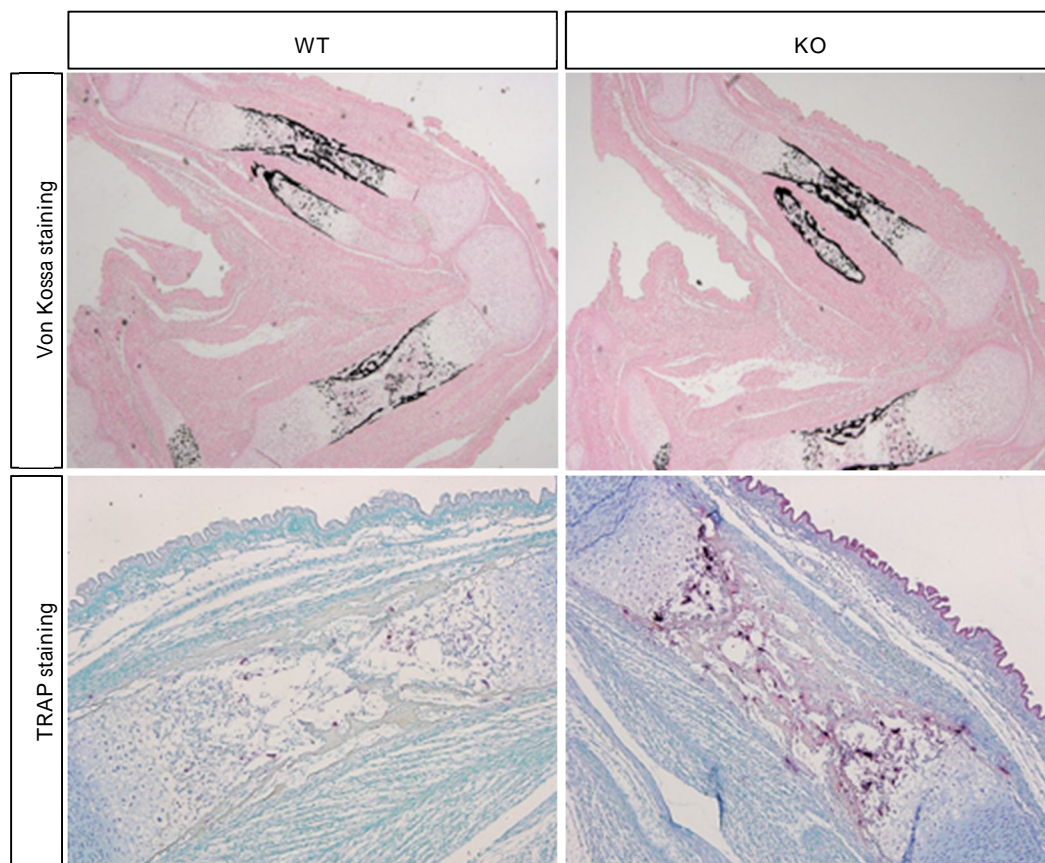


図 3 胎生 16.5 日における von Kossa 染色と TRAP 染色結果

また、生後 8 週齢の野生型と遺伝子欠失マウスにおける脛骨の比較では、骨質に差が認められ、遺伝子欠失マウスにおいては骨質が野生型に比較し、高まる傾向が認められた(図 4)。また、その差は雄よりも雌においてその傾向が認められる結果となった(図 4)。また、アパタイト配向性について野生型と遺伝子欠失マウスの脛骨において比較したところ、アパタイト配向性は遺伝子欠失マウス脛骨において、野生型よりも高まる傾向があることが認められた(図 4)。また、これらの傾向は雄よりも雌において高まる傾向を認めた(図 4)。

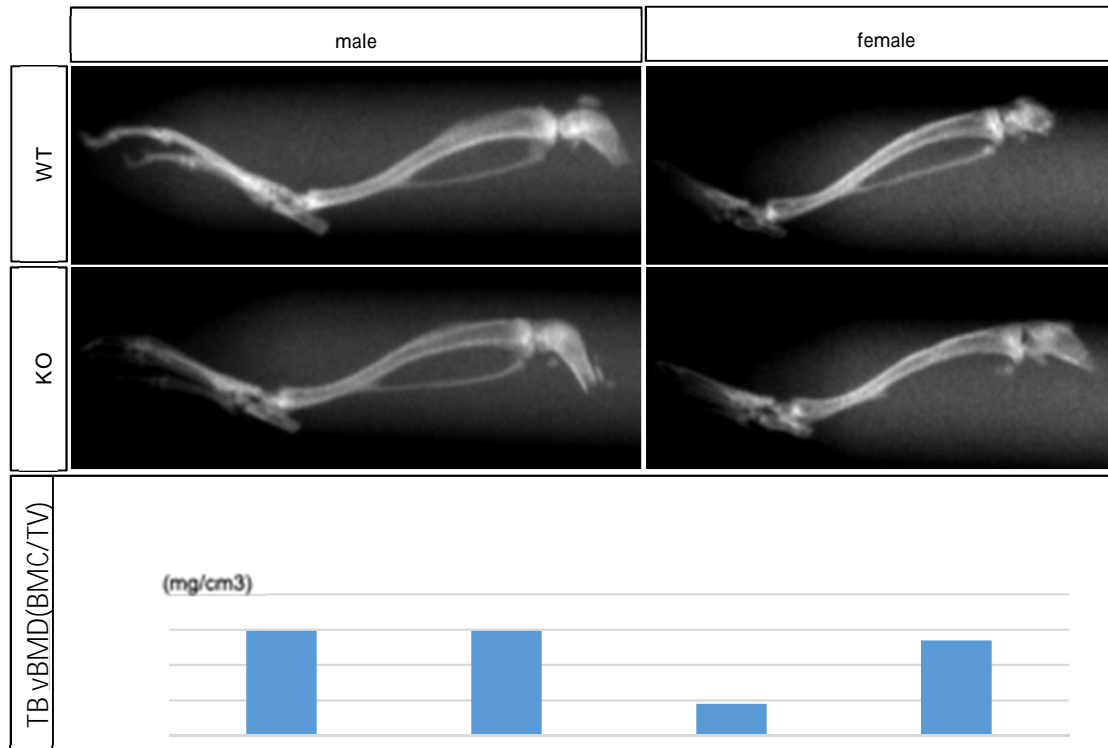


図 4 生後 8 週齢の脛骨における骨質の比較

これらの *sorcina* 遺伝子欠失マウスと野生型マウスの解析により、Ca 結合因子である Sorcin は骨形成においてアポトーシスを促進する因子である可能性が示唆され、脛骨骨端板軟骨部位においては、その骨形成に対して、負に働く因子である可能性も示唆された。さらに、生後の骨成長過程においては、アパタイト配向性に対する負の因子である可能性が示唆され、また、骨密度に対しても負の因子である可能性が示唆された。

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 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Maruyama H, Taguchi A, Mikame M, Lu H, Tada N, Ishijima M, Kaneko H, Kawai M, Goto S, Saito, Ohashi R, Nishikawa R, and Ishii S.	4. 巻 10;2 (6):
2. 論文標題 Low bone mineral density due to secondary hyperparathyroidism in the GlatmTg(CAG-A4GALT) mouse model of Fabry disease.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 FASEB BioAdvances	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fba.2019-00080. eCollection 2020 Jun.	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 -

1. 著者名 Kawai M, Herrmann D, Fuchs A, Cheng S, Ferrer-Vaquerer A goents R, Driller K et al.,	4. 巻 52
2. 論文標題 Fgfr1 conditional-knockout in neural crest cells inducedces heterotypic chondrogenesis and osteogenesis in mouse frontal bones.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 156-163
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-018-0213-z	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 山本 まりこ, 石本 卓也, 南郷 脩史, 中野 貴由, 山本 博充.
2. 発表標題 軟骨内骨化過程におけるCa結合蛋白Sorcinの局在と機能解析.
3. 学会等名 第53回日本臨床分子形態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本 まりこ, 石本 卓也, 南郷 脩史, 中野 貴由, 山本 博充
2. 発表標題 軟骨内骨化過程におけるCa 結合蛋白Sorcin の局在と機能解析
3. 学会等名 日本臨床分子形態学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kawai M, Ohira K
2. 発表標題 Sorin Expression in the Epiphyseal Growth Plates of Mice
3. 学会等名 International Association of Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2018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	服部 高子 (Hattori Takako) (00228488)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教 (15301)	

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		
米国	University of Wisconsin-Madison		