

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16227

研究課題名(和文)Osteocrinの筋骨格系における展開研究

研究課題名(英文)Translational research on osteocrin for musculo-skeletal system

研究代表者

金井 有吾 (Kanai, Yugo)

京都大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：80802769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Osteocrinトランスジェニックマウスを用いて、OsteocrinがNPR-C受容体によるC型ナトリウム利尿ペプチド(CNP)のクリアランスを阻害することにより、骨伸長促進作用を発揮することを明らかにした。同じくCNPのクリアランスに関わるNeutral endopeptidaseに着目し、野生型マウスにおいてその阻害剤の投与により骨伸長促進作用が得られることを見出した。CNPは成長障害を呈する疾患の治療薬として開発が進んでいるが、本研究の成果から、そのクリアランスに関わる分子が新たな創薬標的となる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

成長障害に対する治療薬は長らく成長ホルモン製剤に限られ、成長ホルモン抵抗性の疾患に対する治療が望まれてきた。このニーズに対してCNPの臨床応用が期待されており、関連する研究の社会的意義は大きいと思われる。最近ではCNPアナログ製剤の軟骨無形成症に対する臨床試験ではヒトにおける有効性も示され、CNPを軸とした新たな成長障害の治療開発が進む中で、CNPのクリアランスを制御修飾する薬剤の開発という観点での研究はこれまででなされていなかった。独創的かつ新たなアプローチによりこの領域の展開に寄与する点で、本研究の成果は学術的にも重要な位置を占めると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have clarified that osteocrin promotes skeletal growth and its mechanisms are mediated by inhibiting NPR-C receptor, a clearance receptor of C-type natriuretic peptide (CNP), using osteocrin transgenic mice. Furthermore, we focused on neutral endopeptidase involving clearance of CNP. Administration of a neutral endopeptidase inhibitor promoted skeletal growth of wild-type mice as well as osteocrin. CNP has been developed as an agent of growth retardation and skeletal disorders. The present investigation provides important findings that molecules related to clearance of CNP has potential to be new therapeutic targets for them.

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：Osteocrin CNP

1. 研究開始当初の背景

ナトリウム利尿ペプチド (NP) の一つである C 型ナトリウム利尿ペプチド (CNP) とその受容体である guanylyl cyclase B (GC-B) は生体内で成長板に作用する強力な因子であることが示されてきた。これまで我々は、軟骨無形成症などの骨系統疾患モデルマウスと血中濃度上昇型 CNP トランスジェニックマウスとの交配実験を通して、CNP 投与がこれらの疾患における低身長や骨伸長障害の治療薬となる可能性を示し (Yasoda A et al. Nat Med. 2004, Endocrinology. 2009) CNP もしくはそのアナログ製剤の臨床応用に向けた研究を進めている。しかし一般的にペプチド製剤は生体への投与後に様々な因子により容易に分解・代謝されるという問題点があり、CNP 製剤の臨床応用には依然として多くの障壁が存在している。

近年、骨組織及び骨格筋が分泌する分子として報告された Osteocrin は、約 130 のアミノ酸から成るペプチドホルモンである。Osteocrin は NP のクリアランスレセプターである NPR-C に特異的に結合するとされ、それにより NPR-C のクリアランス作用を阻害し NP 活性を増強するという仮説が提唱されているが、未だその作用に関しては不明な点が多い。我々は human serum amyloid P promoter を用いて肝臓特異的に Osteocrin が過剰発現することでその循環血中濃度が上昇するトランスジェニックマウス (Osteocrin トランスジェニックマウス) を作製し、Osteocrin の骨に対する作用を解析した。その結果から、Osteocrin が NPR-C による CNP のクリアランス作用を阻害し CNP の作用を増強することで骨伸長促進効果をもたらすことが示され、Osteocrin の骨における作用およびその作用機序を in vivo で示した初めての報告となった (Kanai Y et al. J Clin Invest. 2017)。

2. 研究の目的

Osteocrin が成長障害を呈する疾患の治療薬となる可能性を明らかにすることを目的とし本研究を開始した。我々は CNP 製剤の臨床応用に向けた研究を行ってきたが、CNP は生体内への投与後に様々な因子により容易に分解・代謝されるという問題があり、臨床応用へのハードルであった。先行研究にて Osteocrin が CNP のクリアランスを阻害することが明らかとなったため、Osteocrin の投与が CNP 製剤の持つ生体内での不安定性という問題を解決する可能性があり、Osteocrin の臨床応用を視野に入れた研究は CNP 治療の臨床応用を進めるうえで非常に重要な研究となり得る。

3. 研究の方法

臨床応用を目指し、Osteocrin トランスジェニックマウスで確認された Osteocrin の筋骨格系に対する作用が再現されることを確認するため、この Osteocrin トランスジェニックマウスのバックグラウンドである C57BL/6 マウス (野生型) に対して Osteocrin の合成ペプチドの外因性投与を行った。後述するが、この外因性投与により有意なフェノタイプの変化を得ることができなかったため、研究方針を変更することとした。

NPR-C 受容体と同じく NP のクリアランスに関わる neutral endopeptidase に着目した。Neutral endopeptidase 阻害剤はクリアランス阻害により心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) および脳性ナトリウム利尿ペプチド (BNP) を増加させ、心不全への臨床応用が進んでいる。し

かし、Neutral endopeptidase 阻害剤が CNP を増加させることも想定されるが、骨格系に関する作用の報告はない。そこで野生型マウスに Neutral endopeptidase 阻害剤を投与し、骨伸長促進作用が見られるか観察した。

4 . 研究成果

野生型マウスに Osteocrin 合成ペプチドを Osmotic pump により投与したが、骨伸長促進作用は確認できなかった。そこで、野生型マウスに対し Neutral endopeptidase 阻害剤の経口投与を行ったところ、体長の伸長が得られることを見出すことができ、この成長曲線は Osteocrin トランスジェニックマウスと類似していた。野生型マウス、Osteocrin トランスジェニックマウスの双方に Neutral endopeptidase 阻害剤を投与したところ、野生型マウスの成長速度は Osteocrin トランスジェニックマウスと同等になる一方、Osteocrin トランスジェニックマウスでさらなる成長速度の増加は認めなかった。

以上のように、CNP のクリアランス阻害という観点から成長障害に対する新規治療の可能性を示すことができた。今後は CNP 製剤に対する Neutral endopeptidase 阻害剤の併用効果の検証や、成長障害の疾患モデルマウスに対する投与実験などを予定している。

成長障害に対する治療薬は長らく成長ホルモン製剤に限られ、成長ホルモン抵抗性の疾患に対する治療が望まれてきた。このニーズに対して CNP の臨床応用が期待されており、関連する研究の社会的意義は大きいと思われる。最近では CNP アナログ製剤の軟骨無形成症に対する臨床試験ではヒトにおける有効性も示され、CNP を軸とした新たな成長障害の治療開発が進む中で、CNP のクリアランスを制御修飾する薬剤の開発という観点での研究はこれまでなされていなかった。新たなアプローチによりこの領域の展開に寄与する点で、本研究の成果は学術的にも重要な位置を占めると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hirota Keisho, Yasoda Akihiro, Kanai Yugo, Ueda Yohei, Yamauchi Ichiro, Yamashita Takafumi, Sakane Yoriko, Fujii Toshihito, Inagaki Nobuya	4. 巻 8
2. 論文標題 Live imaging analysis of the growth plate in a murine long bone explanted culture system	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-28742-x	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 該当する
1. 著者名 Hirota Keisho, Furuya Mayumi, Morozumi Naomi, Yoshikiyo Kazunori, Yotsumoto Takafumi, Jindo Toshimasa, Nakamura Ryuichi, Murakami Koichiro, Ueda Yohei, Hanada Takeshi, Sade Hiroko, Yoshida Sayaka, Enomoto Kei, Kanai Yugo, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Exogenous C-type natriuretic peptide restores normal growth and prevents early growth plate closure in its deficient rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0204172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0204172	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 該当する
1. 著者名 Ueda Yohei, Yasoda Akihiro, Hirota Keisho, Yamauchi Ichiro, Yamashita Takafumi, Kanai Yugo, Sakane Yoriko, Fujii Toshihito, Inagaki Nobuya	4. 巻 9
2. 論文標題 Exogenous C-type natriuretic peptide therapy for impaired skeletal growth in a murine model of glucocorticoid treatment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-44975-w	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 該当する
1. 著者名 八十田 明宏、金井 有吾	4. 巻 32
2. 論文標題 特集 ホルモンによる骨代謝の制御 4.臓器連関から見たホルモンによる骨代謝調節(3)オステオクリンとC型ナトリウム利尿ペプチド	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 腎と骨代謝	6. 最初と最後の頁 158 ~ 163
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.19020/KB.0000000203	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金井 有吾
2. 発表標題 循環血液中のオステオクリンはC型ナトリウム利尿ペプチドのクリアランスを阻害することにより骨伸長を促進する
3. 学会等名 第91回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金井 有吾
2. 発表標題 循環血液中のオステオクリンはC型ナトリウム利尿ペプチドのクリアランスを阻害することにより骨伸長を促進する
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会学術集会（招待講演）
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
--	---------------------------	-----------------------	----