

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：34519

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K17214

研究課題名(和文)骨微小環境におけるSASP因子の関与

研究課題名(英文) Involvement of SASP in bone microenvironment

研究代表者

玉岡 丈二 (Tamaoka, Joji)

兵庫医科大学・医学部・助教

研究者番号：60755578

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)：老化に伴う破骨細胞前駆細胞の増殖、分化およびSASPへの影響を解明することを目的として研究を行った。老化破骨細胞前駆細胞はRANKの発現低下により破骨細胞の分化能が低下していると考えられた。また、老化破骨細胞前駆細胞はSASP因子(iNOS, TGF- β 1, HIF)の発現上昇を認めた。骨微小環境内において、分化できない老化破骨細胞前駆細胞の蓄積はNOやIL-6といった炎症性サイトカインの産生増加をきたし、関節リウマチなどの炎症性骨疾患と関連しているのではないかと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老化は未解明な生命現象であり、骨リモデリングが行われる骨微小環境においても例外ではない。骨リモデリングは破骨細胞と骨芽細胞による連関した制御システムであり、このバランスの破綻がさまざまな骨疾患につながる。近年、老化を起こした細胞は、単に細胞増殖を停止しているのではなく、炎症性サイトカインなどさまざまなタンパク質を分泌していることが明らかになった。この分泌現象はSASP(senescence-associated secretory phenotype)と呼ばれているが、骨微小環境との関連の報告は少なく、本研究は価値のあるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the effects of aging on osteoclast precursor cell proliferation, differentiation and SASP. It is considered that senescent osteoclast progenitor cells have reduced osteoclast differentiation potential due to decreased expression of RANK. In addition, the expression of SASP factors (iNOS, TGF- β 1, HIF) was increased in senescent osteoclast progenitor cells. It is thought that it may be associated with inflammatory bone diseases such as rheumatoid arthritis due to increased production of inflammatory cytokines.

研究分野：口腔外科

キーワード：骨微小環境 SASP

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

老化は未解明な生命現象であり、骨リモデリングが行われる骨微小環境においても例外ではない。骨リモデリングは破骨細胞と骨芽細胞による連関した制御システムであり、このバランスの破綻がさまざまな骨疾患につながる。近年、老化を起こした細胞は、単に細胞増殖を停止しているのではなく、炎症性サイトカインなどさまざまなタンパク質を分泌していることが明らかになった。この分泌現象は SASP (senescence-associated secretory phenotype) と呼ばれているが、骨微小環境との関連の報告は少ない。

2. 研究の目的

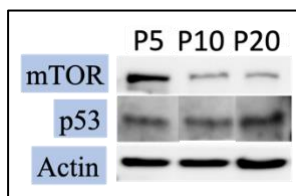
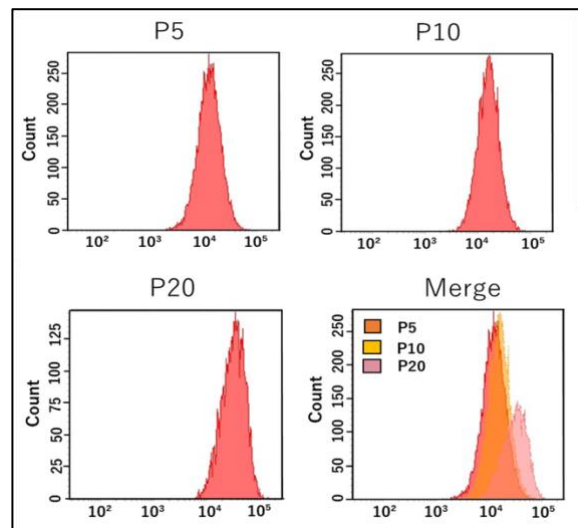
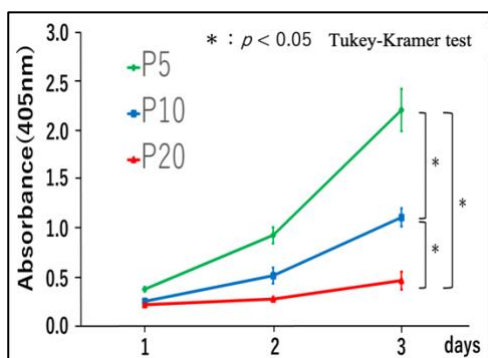
老化に伴う破骨細胞前駆細胞の増殖、分化および SASP への影響を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

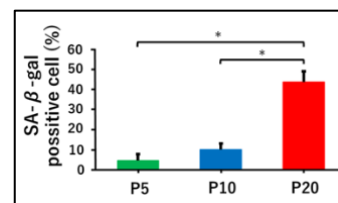
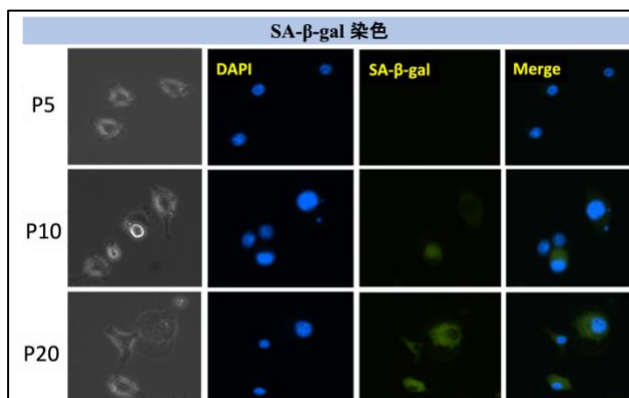
細胞はマクロファージ系破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 を用いた。RAW264.7 を、5、10、20 代継代培養(それぞれ P5、P10、P20)した。細胞増殖能は WST-8 assay および mTOR の発現をウエスタンブロット法(以下 WB)で評価した。老化は細胞老化マーカーである SA-βGal 活性および p53 の発現を WB で評価した。破骨細胞分化への影響は、RANKL (50 ng/ml) の投与後、TRAP 染色および TRAP activity assay を行い、RANK、NFATc1 の発現を WB で評価した。SASP 因子 (iNOS、HIF、TGF-β1) の発現を WB で評価し、また培養上清中の NO および IL-6 産生量の測定を行った。

4. 研究成果

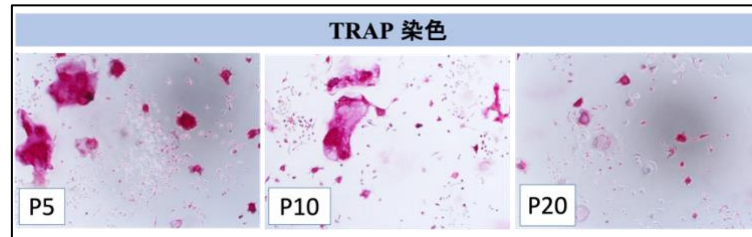
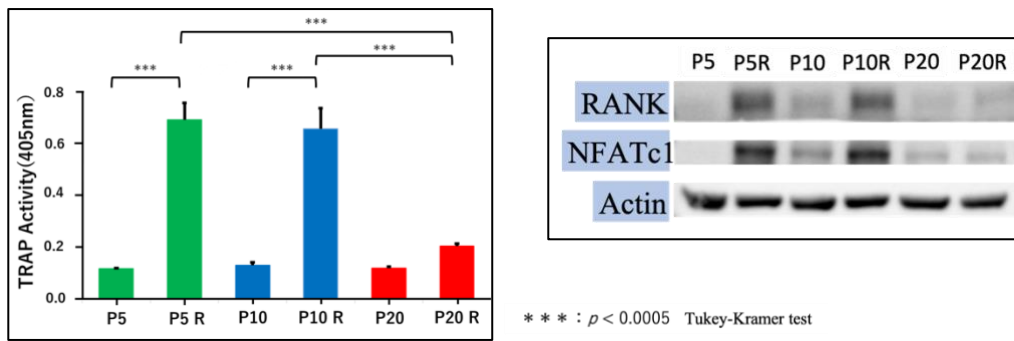
継代数の増加に伴い細胞増殖能は低下していた。細胞増殖は P5 が最も高く、次に P10、P20 の順に低下し、mTOR 発現も同様であった。



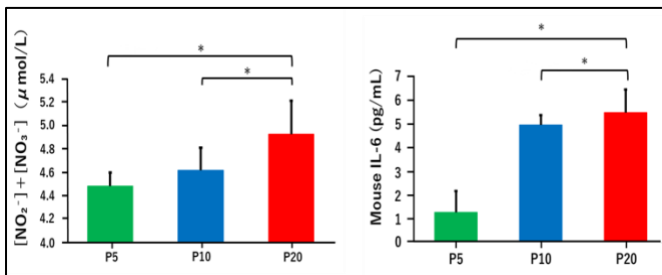
P20 では、P5 および P10 と比較して SA-βGal 活性の増強および p53 発現の上昇を認め、複製老化を再現した。



継代数の増加に伴い、TRAP activity および破骨細胞分化マーカーである RANK, NFATc1 の発現低下を認めた。また、継代数の増加に伴い、TRAP 陽性の多核巨細胞数の減少を認めた。



継代数の増加に伴い、培養上清中の SASP 因子 (NO, IL-6) およびエクソソーム濃度上昇、SASP 因子 (iNOS, HIF, TGF- β 1) のタンパク発現上昇を認めた。



老化破骨細胞前駆細胞は RANK の発現低下により破骨細胞の分化能が低下していると考えられた。老化破骨細胞前駆細胞は SASP 因子 (iNOS, TGF- β 1, HIF) の発現上昇を認めた。骨微小環境内において、分化できない老化破骨細胞前駆細胞の蓄積は NO や IL-6 といった炎症性サイトカインの産生増加をきたし、関節リウマチなどの炎症性骨疾患と関連しているのではないかと考えられた。

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 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tamaoka J, Takaoka K, Hattori H, Ueta M, Maeda H, Yamamura M, Yamanegi K, Noguchi K, Kishimoto H	4. 巻 17
2. 論文標題 Osteonecrosis of the jaws caused by bisphosphonate treatment and oxidative stress in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine	6. 最初と最後の頁 1440-1448
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/etm.2018.7076	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 Ueta M, Takaoka K, Yamamura M, Maeda H, Tamaoka J, Nakano Y, Noguchi K, Kishimoto H	4. 巻 20
2. 論文標題 Effects of TGF- 1 on the migration and morphology of RAW264.7 cells in vitro.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Medicine Reports	6. 最初と最後の頁 4331-4339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mmr.2019.10662	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 服部洋一, 高岡一樹, 玉岡丈二, 上田美帆, 押谷将之, 野口一馬, 岸本裕充
2. 発表標題 破骨細胞前駆細胞の老化におけるSASPへの影響
3. 学会等名 第74回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2020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
---------------------------	-----------------------	----