

平成 21年 5月 7日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592294

研究課題名（和文）

破骨細胞分化メカニズムに関与する免疫機能の分子生物学的解析

研究課題名（英文）The molecular biological analysis of the immuno-function on differentiated mechanism of the osteoclasts

研究代表者

水川 展吉（MIZUKAWA NOBUYOSHI）

岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師

研究者番号：00263608

研究成果の概要：

骨粗鬆症実験モデルマウスに対しDHNAの投与を行った結果、局所での骨代謝改善が確認された。DHNA投与を行ったマウスは、骨粗鬆症発症させたモデルと比較し大腿部骨組織の破壊・吸収の程度が軽減されていることが確認された。また同部の軟X線撮影を行ったが、DHNAを投与したマウスでは骨密度は骨粗鬆症モデルより高いことが確認され、さらにDHNA投与マウスは大腸組織の炎症程度は軽度であり、血清より測定した腎機能（Cr・BUN）・血中カルシウム濃度の値も減少していた。以上からDHNAは骨粗鬆症の治療として効果がある可能性が示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：免疫

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：免疫学、細胞・組織

1. 研究開始当初の背景

急速な高齢化社会への移行に伴い、加齢による骨粗鬆症の増加は患者のQOLを著しく低下させている。ヒトの骨量は18歳ころをピークとし、加齢とともに骨組織は減少し、その結果骨折を起こしやすくなる。本邦において寝たきりの原因第1位が脳卒中、第2位が老衰、第3位が骨粗鬆症による骨折であることから、骨粗鬆症は高齢化社会が抱える問題の一つであると言える。

これに対応するための手段は、骨吸収のメカニズムを解析し骨吸収の抑制、骨破壊の防止・阻止をすることである。そのため利用頻度の高い食品に添加でき、骨粗鬆症が改善できる物質の開発が望まれていた。近年、DHNAは近年骨量改善作用を持つことで注目されており、これまでに申請者らはDHNAの骨代謝改善作用について検討を行ってきた。その結果DHNAは破骨細胞の分化を抑制し、骨粗鬆症を改善させることが認

められた。そしていくつかの骨粗鬆症モデルで DHNA の効果を検討したところ、特に我々の開発した骨粗鬆症モデルに有意に効果があることがわかった。

2. 研究の目的

申請者らは、高齢化社会の進行に伴う骨粗鬆症患者の増加に対応するためには骨吸収のメカニズムを解析し骨吸収の抑制、骨破壊の防止・阻止をすることが重要であると考え骨粗鬆症と破骨細胞、DHNA の関係について研究を行った。一方、破骨細胞は骨転移した癌の進展にも重要な役割を果たしている。申請者らは破骨細胞の持つ様々な役割についても着目し、今日の癌の病態に関しても詳しく調査した。

また、他の免疫系の代表的な疾患としてシェーグレン症候群がある。申請者らは免疫系等の異常をきたす本疾患に罹患した場合の唾液腺中における「抗菌ペプチド・デフェンシン」が正常唾液腺中のデフェンシンの局在とどう違うかを検討し、シェーグレン症候群の病態を究明するための研究も行った。

3. 研究の方法

骨粗鬆症実験モデルマウスに対し DHNA の投与を行い、軟 X 線撮影にて、DHNA を投与したマウスとコントロールマウスの骨密度を比較した。また、骨代謝と関連性の高い臓器にも注目し、DHNA 投与マウスとコントロールマウスにおける大腸組織の炎症程度腎機能 (Cr・BUN) ・血中カルシウム濃度の値も比較した。同様に血清中から多種サイトカインの計測もおこなった。さらに、マウスの骨髄由来の破骨細胞を培養し、DHNA を投与マウスとコントロールマウスにおける破骨細胞数を比較した。

4. 研究成果

骨粗鬆症実験モデルマウスに対し DHNA の投与を行った結果、局所での骨代謝改善が確認された。DHNA 投与を行ったマウスは、骨粗鬆症発症させたモデルと比較し大腿部骨組織の破壊・吸

収の程度が軽減されていることが確認された。また同部の軟 X 線撮影を行ったが、DHNA を投与したマウスでは骨密度は骨粗鬆症モデルより高いことが確認された。今回は骨代謝と関連性の高い臓器に注目したが、DHNA 投与マウスは大腸組織の炎症程度は軽度であり、血清より測定した腎機能 (Cr・BUN) ・血中カルシウム濃度の値も減少していた。同様に血清中から多種サイトカインの計測をおこなったが特に骨の炎症・破壊に関与するサイトカイン (IL-1 β ・IL-6・TNF- α) の値は DHNA 投与したモデルで減少していることが確認された。マウスの骨髄由来の破骨細胞を培養したところ、DHNA を投与したマウスの破骨細胞は骨粗鬆症モデルより細胞数が減少し、分化の程度も低分化であった。これらの結果より DHNA が骨粗鬆症改善作用を示すことが確認された。しかし DHNA の破骨細胞抑制機序については遺伝子あるいはタンパクレベルでの検討が必要であると判断した。今後は骨吸収を担う破骨細胞への直接的な作用について検討を行う予定である。

また、ヒトの正常唾液腺中に恒常的に発現し、抗菌作用を持つことで自然免疫の役割を果たすデフェンシンが、シェーグレン症候群に罹患すると著名に局在が減少することも分かった。この結果に関しては、メカニズムは明らかにはできなかったが、今後研究を進めることで原因不明とされる本疾患の病態の解明に結びつく可能性が示唆された。

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 8 件)

- ① Yamachika E., Tsujigiwa H., Shirasu N., Ueno T., Sakata Y., Fukunaga J., Mizukawa N., Yamada M., Sugahara T.: Immobilized recombinant human bone

morphogenetic protein-2 enhances the phosphorylation of receptor-activated Smads. *J Biomed Mater Res A*. 88: 599-607, 2009, 査読有

- ② 水川 展吉, 富永 進, 木股 敬裕, 小野田 友男, 野宮 重信, 杉山 成史, 川本 知明, 山近 英樹, 植野 高章, 高木 慎: 頭頸部がんにおける耳鼻咽喉科、形成外科、口腔外科 3科合同手術の意義: 2症例における口腔外科の役割を中心に. *岡山医学会雑誌* 119: 267-272, 2008, 査読有
- ③ 水川 展吉, 富永 進, 木股 敬裕, 小野田 友男, 杉山 成史, 山近 英樹, 山田 庸介, 木村 卓爾, 竹内 哲男, 植野 高章, 高木 慎: 頭頸部癌における頭頸部外科、形成外科、口腔外科 3科合同手術における口腔外科の役割: 下顎再建症例における3D石膏造形モデルを利用した術前プレート屈曲法. *岡山医学会雑誌* 120: 299-305, 2008, 査読有
- ④ Frederic MK., Yamaai T., Mizukawa N., Kaneda Y., Katase N., Gunduz M., Nagatsuka H., Sugahara T.: Expression of human β -defensin-1, -2, and -3 in non-inflamed pseudocyst, mucocoeles. *Oral Diseases* 14: 652-657, 2008, 査読有
- ⑤ Ueno T., Honda K., Hirata A., Kagawa T., Kanou M., Shirasu N., Sawaki M., Yamachika E., Mizukawa N., Sugahara T.: Histological comparison of bone induced from autogenously grafted periosteum with bone induced from autogenously grafted bone marrow in the rat calvarial defect model. *Acta Histochem.* 110: 217-223, 2008, 査読有
- ⑥ 水川 展吉, 佐々木 朗, 大杉 篤生, 目瀬 浩, 志茂 剛, 金田 祥弘, 西山 明慶, 吉

濱 泰斗, 鳩本 清美, 沢木 聖子, 山近 英樹, 植野 高章, 高木 慎, 菅原 利夫: 岡山県における口腔がん検診(第2報). *岡山歯学会雑誌* 26: 21-24, 2007, 査読有

- ⑦ 水川 展吉, 山中 玲子, 山本 龍雄, 松崎 秀信, 浅海 淳一, 山近 英樹, 植野 高章, 高木 慎, 菅原 利夫: 放射線治療後の口腔乾燥に対し、塩酸ピロカルピン(サラジェンR)を投与しフッ素塗布を用いた口腔ケアを行った2症例. *岡山歯学会雑誌* 26: 21-24, 2007, 査読有
- ⑧ Ueno T., Sakata Y., Hirata A., Kagawa T., Kanou M., Shirasu N., Sawaki M., Honda K., Mizukawa N., Sugahara T.: The evaluation of bone formation of the whole-tissue periosteum transplantation in combination with beta-tricalcium phosphate (TCP). *Ann Plast Surg.* 59: 707-712, 2007, 査読有

[学会発表] (計 9件)

- ① 水川 展吉, 佐々木 朗, 鳩本 清美, 吉岡 徳枝, 金田 祥弘, 塚本 剛一, 松原 正和, 目瀬 浩, 沢木 聖子, 岸本 晃治, 山近 英樹, 志茂 剛, 植野 高章, 椋代 達典, 山本 大介, 武田 斉子, 高木 慎: 岡山県下の前癌病変を含む口腔癌検診—岡山県歯科医師会とのコラボレーション, 第29回岡山歯学会(岡山, 2008年11月24日, 口演)
- ② 水川 展吉, 富永 進, 木股 敬裕, 山近 英樹, 山田 庸介, 木村 卓爾, 金田 祥弘, 西川 悟郎, 山中 玲子, 植野 高章, 竹内 哲男, 有地 秀裕, 武田 斉子, 高木 慎: 口腔を含む頭頸部癌における耳鼻科、形成外科、口腔外科3科合同手術—診療科の枠をこえた医科歯科連携コラボレーション, 第29回岡山歯学会(岡山, 2008年11

- 月 24 日, 口演)
- ③ 松原 正和, 山近 英樹, 水川 展吉, 植野 高章, 金田 祥弘, 白数 信明: rh-BMP2 による間葉系幹細胞の骨形成能の評価, 第 53 回日本口腔外科学会総会 (徳島, 2008 年 10 月 20 日, ポスター)
 - ④ Frederic MK., Mizukawa N., Kaneda Y., Sugahara T.: Expression of Human-defensin and cytokines in non-inflamed pseudocyst, mucoceles. 第 53 回日本口腔外科学会総会 (徳島, 2008 年 10 月 20 日, ポスター)
 - ⑤ 水川 展吉, 富永 進, 木股 敬裕, 小野田 友男, 杉山 成史, 山近 英樹, 山田 庸介, 木村 卓爾, 植野 高章, 高木 慎: 米国がんセンターをモデルとした頭頸部癌における耳鼻科、形成外科、口腔外科 3 科合同手術—歯科口腔外科医の役割, 第 4 6 回日本癌治療学会 (名古屋, 2008 年 10 月 30 日, ポスター)
 - ⑥ 水川 展吉, 富永 進, 木股 敬裕, 小野田 友男, 野宮 重信, 杉山 成史, 山近 英樹, 金田祥弘, 山田 庸介, 木村 卓爾, 竹内 哲男, 植野 高章, 高木 慎: 下顎再建症例における耳鼻科、形成外科、口腔外科 3 科合同手術—インクジェット法による術前プレート屈曲法, 第 3 2 回日本頭頸部癌学会 (東京, 2008 年 6 月 11-13 日, ポスター)
 - ⑦ 金田 祥弘, 水川 展吉, フレデリック・マック・ケビン, 山近 英樹, 長塚 仁大杉 篤生, 松原 正和, 高木 慎, 菅原 利夫: シェーグレン症候群の進行と口唇腺中のヒト β デフェンシンの発現様式との関係, 第 52 回日本口腔外科学会総会 (名古屋, 2007 年 9 月 29 日, ポスター)
 - ⑧ 水川 展吉, 目瀬 浩, 志茂 剛, 佐々木 朗 大杉 篤生, 西山 明慶, 金田 祥弘,

植野 高章, 吉濱 泰斗, 高木 慎, 菅原 利夫: 岡山県下の前癌病変を含む口腔がん検診, 第 3 1 回日本頭頸部癌学会 (横浜, 2007 年 6 月 15 日, ポスター)

- ⑨ Frederic MK., Kaneda Y., Mizukawa N., Sugahara T.: Expression of human beta-defensin-1, -2, and -3 in mucocele. 第 3 6 回日本口腔外科学会中・四国地方会 (広島, 2007 年 5 月 26 日, 口演)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水川 展吉 (MIZUKAWA NOBUYOSHI)
岡山大学・医学部・歯学部附属病院・講師
研究者番号: 00263608

(2) 研究分担者

山近 英樹 (YAMACHIKA EIKI)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 10294422

高木 慎 (TAKAGI SHIN)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 40116471

山合 友一郎 (YAMAAI YUUCHIROU)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号: 00158057

(3) 連携研究者

なし