

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K19284

研究課題名（和文）炎症誘導ケモカインレセプター刺激の破骨細胞形成および矯正学的歯の移動への影響

研究課題名（英文）Effects of inflammation-induced chemokine receptor stimulation on osteoclast formation and orthodontic tooth migration

研究代表者

島 和弘（Shima, Kazuhiro）

東北大学・歯学研究科・非常勤講師

研究者番号：40792148

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）：野生型マウスの頭蓋部にLPS単独、LPSとCXCR7のagonistである VUF11207をそれぞれ投与後、組織切片を作製し、破骨細胞形成を比較評価した。その結果、VUF11207はLPSによる破骨細胞形成を抑制した。同様にVUF11207はLPSによる破骨細胞形成を抑制した。また、in vitroの実験で、RANKLおよびTNF- α による破骨細胞形成をCXCL12は促進したが、VUF11207で抑制した。その結果より、VUF11207はCXCL12による破骨細胞促進を抑制することがわかった。その作用はCXCR7のagonistによって抑制されることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、生活習慣病の一つである肥満が患者の健康寿命を短縮する因子として問題視されている。肥満は、脂肪細胞が肥大、増殖によって発症する。我々は、脂肪細胞に発現する炎症性サイトカインであるCXCL12が破骨細胞形成に促進することを報告した。CXCL12がシグナル伝達を行う主な受容体としてCXCR4があるが、近年、デコイ受容体であるCXCR7にも結合し、CXCL12/CXCR4のシグナル伝達に抑制的に働くことが報告された。本研究では、CXCL12/CXCR4、CXCL12/CXCR7のシグナル伝達が破骨細胞形成に対する関連性が明らかになれば、肥満の骨代謝への影響を明らかにできると考えている。

研究成果の概要（英文）：After administration of LPS alone and LPS and VUF11207, which is an agonist of CXCR7, to the supracalvaria of wild-type mice, histological analysis was performed and osteoclast formation was evaluated. As a result, VUF11207 suppressed LPS-induced osteoclast formation in vivo. CXCL12 promoted osteoclast formation by RANKL and TNF- α , in vitro but VUF11207 suppressed osteoclast formation. These results suggested that VUF11207 suppresses CXCL12 enhanced osteoclast formation in vitro. We found CXCR7 agonist inhibited CXCL12 enhanced osteoclast formation.

研究分野：破骨細胞

キーワード：破骨細胞 CXCL12

1. 研究開始当初の背景

肥満に伴う代謝異常によるメタボリックシンドロームが近年問題視されている。肥満の有病率は年々増加しており、矯正治療においても肥満の患者は増加してきている。肥満には脂肪細胞の肥大、増殖が関与していることが知られており、骨髄ニッチに存在する脂肪細胞は、肥満、骨吸収の増加する骨粗鬆症、関節リウマチ、骨転移性の癌の際に著しく増加することが知られている。このことから、脂肪細胞と破骨細胞の関係を調べることは重要なことだと考えられている。一方、低濃度の RANKL 存在下で脂肪細胞と破骨細胞前駆細胞を共培養すると、破骨前駆細胞単独で培養するよりも破骨細胞の分化を促進し、骨吸収を増加させた。このことから、脂肪細胞は、破骨細胞形成に関連することが分かってきた。その因子として、脂肪細胞が分泌するケモカインの一つである CXCL12 が、RANKL の受容体である RANK からシグナル伝達を増強し、破骨細胞分化を誘発することが報告されている。CXCL12 がシグナル伝達を行う主な受容体として CXCR4 があるが、近年、CXCL12 は CXCR7 にも結合することが明らかになった。CXCR7 はシグナル伝達を行わないデコイ受容体と考えられており、炎症を抑制的に調節する。CXCL12/CXCR7 のシグナル伝達は、CXCL12/CXCR4 のシグナル伝達に抑制的に働くことが報告された。肥満患者の場合、脂肪細胞に発現する CXCL12 が破骨細胞に影響をおよぼす可能性が考えられるという仮説から、我々は CXCL12 が炎症に伴うマウス頭蓋骨の破骨細胞形成を促進することを報告した(Shima et al. *Calcified Tissue International*. 1-12.2018)。しかし、CXCL12 の破骨細胞形成について、CXCL12/CXCR4 と CXCL12/CXCR7 のそれぞれのシグナル伝達的作用はまだ明らかになっていない。そこで本研究では、破骨細胞形成に対する、CXCL12/CXCR4 と CXCL12/CXCR7 の作用を比較する。

2. 研究の目的

生活習慣病の一つである肥満は年々増加傾向にある。近年、肥満と骨代謝は密接に関係していることが明らかとなっており、肥満についての研究は社会的ニーズが高まっており今後非常に重要であると考えられる。CXCL12 と生理的骨吸収に関与しているといわれる RANKL による破骨細胞形成との関連性は調べられているが、一方、CXCL12 と歯周病やリウマチで炎症による病的骨吸収に関連している TNF- α による破骨細胞形成は研究されていないのが現状である。これらのことから、脂肪細胞と病的骨吸収による破骨細胞形成の関わりについて調べてメカニズムを解明することは大変意義のあるものと思われる。我々は、CXCL12 と破骨細胞形成の関係性について報告したが、さらに CXCR4、CXCR7 それぞれの受容体のシグナル伝達に焦点をあて、詳細なメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1) LPS による破骨細胞形成および骨吸収に対する CXCR12 と CXCR7 agonist の影響

) 野生型マウスの頭蓋部に LPS 単独、LPS と CXCR7agonist との混合液、CXCR7agonist をそれぞれ投与後、組織切片を作製し、破骨細胞形成を比較評価した。

) total RNA を採取し、破骨細胞形成マーカーの発現量を測定することにより破骨細胞形成を比較評価した。

) 骨吸収像をマイクロ CT にて撮影し比較評価する。また、血中の骨吸収マーカーである CTX 血中濃度を測定し骨吸収を比較評価した。

2) CXCR12 と CXCR7 agonist の破骨細胞形成およびシグナル伝達の破骨細胞形成に対する影響の in vitro による解明

) 野生型マウスの骨髄細胞より破骨細胞前駆細胞を作製し、M-CSF の存在下で RANKL および TNF- α を加え、さらに CXCL12 単独、CXCL12 と CXCR7agonist、CXCR7agonist のいずれかを加え破骨細胞形成を比較して評価した。

) 破骨細胞前駆細胞で RANKL および TNF- α のシグナル伝達に対する CXCR12 と CXCR7agonist それぞれのシグナル伝達の影響による MAPKs のリン酸化をウエスタンブロット法にて評価した。

4 . 研究成果

1) LPS による破骨細胞形成および骨吸収に対する CXCR12 と CXCR7 agonist の影響およびそれぞれのシグナル伝達の in vivo による比較評価

LPS による in vivo での破骨細胞形成および骨吸収に対する CXCR7 の影響を調べた。野生型マウスの頭蓋部に LPS 単独、LPS と CXCR7agonist である VUF11207 をそれぞれ投与後、組織切片を作製し、破骨細胞形成を比較評価した。その結果、VUF11207 は LPS による破骨細胞形成を抑制した。血中の骨吸収マーカーである CTX 血中濃度を測定し骨吸収を比較評価した。同様に VUF11207 は LPS による破骨細胞形成を抑制した。また、破骨細胞マーカーである TRAP およびカテプシン K の発現は、CXCR7agonist で抑制された。骨吸収像をマイクロ CT にて撮影し比較評価したところ同様に CXCR7agonist で骨吸収が抑制された。

2) CXCR12 と CXCR7 agonist の破骨細胞形成およびシグナル伝達の破骨細胞形成に対する影響の in vitro による解明

In vitro の実験で、RANKL による破骨細胞形成および TNF- α による破骨細胞形成において CXCL12 はそれらを促進することを報告したが、この CXCL12 の作用を CXCR7 agonist が抑制するかどうかを検討した。その結果、RANKL および TNF- α による破骨細胞形成を CXCL12 は促進

したが、CXCR7 agonist で抑制した。その結果より、CXCR7 agonist はCXCL12 による破骨細胞促進を抑制することがわかった。また、破骨細胞前駆細胞にCXCL12 を作用させるとMAPKs の経路が活性化されることがわかった。その作用はCXCR7のagonist によって抑制されることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Marahleh A, Kitaura H, Ishida M, Shima K, Ogawa S, Shen WR, Qi J, Ohori F, Noguchi T, Nara Y, Mizoguchi I	4. 巻 145
2. 論文標題 Effect of anti-c-fms antibody on osteoclast formation and proliferation of osteoclast precursor in vitro.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Vis Exp	6. 最初と最後の頁 e59089
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/59089	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------