

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22680

研究課題名（和文）筋骨格系由来エクソソームの単離法の開発と身体活動低下に伴う個体機能低下機構の解明

研究課題名（英文）Development of isolation method of musculoskeletal system-derived exosomes and elucidation of the mechanism of individual functional decline caused by decreased physical activity

研究代表者

佐藤 信吾（Sato, Shingo）

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40462220

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、血液中を循環しているエクソソームから、筋骨格系組織由来のエクソソームを単離する技術の開発を進めた。また、臓器間の情報伝達因子として作用が注目されている非コードRNA（ncRNA）に着目し、メカニカルストレスや重力の変化に伴って血液中への分泌が変動するncRNAを同定するとともに、同定したncRNAが他臓器の機能低下に与える影響を検討した。さらに、宇宙航空研究開発機構（JAXA）と共同で、宇宙微小重力環境で飼育されたマウスの血液中ncRNAの網羅的発現解析を実施することを計画しており、宇宙実験に向けた一連の予備的検討を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

寝たきりや加齢による筋骨格系の機能低下（骨密度低下、筋力低下）は、個体全体の機能低下を引き起こすため、社会的にも医学的にも大きな問題となっている。本研究にて同定したメカニカルストレス応答ncRNAは、個体の機能低下を予測する新規バイオマーカーとなる可能性を秘めており、また、このncRNAを標的とすることで、新たな抗加齢治療薬の開発も期待できる。筋骨格系ならびに個体の機能低下を抑制することができれば、国民の健康寿命は飛躍的に延伸し、一方で医療費・介護費の抑制が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we proceeded with the development of isolation method of musculoskeletal tissue-derived exosomes circulating in blood. In addition, we focused on non-coding RNA (ncRNA), which is known as a signal transduction factor between organs, and identified several ncRNAs whose expression in blood fluctuates with changes in mechanical stress or gravity. We also investigated the effect of identified ncRNAs on the functional decline of other organs. Furthermore, in collaboration with the Japan Aerospace Exploration Agency (JAXA), we plan to carry out a comprehensive expression analysis of ncRNA in the blood of mice bred in space microgravity environment, and various preliminary preparations were performed for space experiments.

研究分野：整形外科

キーワード：整形外科 エクソソーム 非コードRNA 臓器間ネットワーク メカニカルストレス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本では超高齢化社会の到来とともに、骨粗鬆症やサルコペニアといった筋骨格系の加齢性疾患を有する高齢者は急増しており、骨折や寝たきりの主な原因となっている。また、身体活動が制限された患者は、認知症や心血管障害などの二次的な加齢性疾患を併発することも多く、健康寿命の延伸は社会的にも医療経済的にも喫緊の課題となっている。

近年、「臓器連関」などの名称で示されるように、臓器間の機能連関、相互作用による新たな生体の恒常性維持機構が注目されている。これまでは臓器間の情報伝達因子として、神経やホルモンに着目した研究が主流であったが、最近では ncRNA を含むエクソソームが臓器間を移動していることが明らかになり、新規臓器間情報伝達因子としてのエクソソームの生理作用が大きく注目されている。実は骨や筋肉も、内分泌臓器として全身の臓器の代謝を調節している可能性が示唆されているが、寝たきりや加齢による筋骨格系の機能低下が全身の加齢性疾患の発症を誘導するメカニズムはよくわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、臓器間ネットワークおよびエクソソームという2つの重要な視点に着目し、マウスの血液中から筋骨格系由来エクソソームを単離する技術の開発を進めるとともに、筋骨格系の機能低下を契機として他臓器の機能低下を誘導しうる分泌型 ncRNA (エクソソームに含まれる形で循環するノンコーディング RNA) を同定し、その生理作用も検討する。

また、研究代表者は、宇宙航空研究開発機構 (JAXA) の平成 29 年度「きぼう」利用フィジビリティスタディテーマ募集「国の戦略的研究募集区分」に採択されている。宇宙微小重力環境では地上の高齢者に起こるような機能低下を、地上の数倍～数十倍もの速度で再現できることが知られている (FASEB J 2013、Sci Rep 2017 など)。そこで本研究では、宇宙微小重力環境で飼育されたマウスの血中 ncRNA の網羅的発現解析も実施し、究極の非荷重状態において血液中への分泌が変動する ncRNA の同定も目指す。

3. 研究の方法

まず、生体血液中を循環する無数のエクソソームから、筋骨格系組織由来エクソソームを単離・抽出する技術開発を目指す。続いて、臓器間の情報伝達因子として作用する ncRNA に着目し、「筋骨格系の機能低下に伴って血液中への分泌が変動する ncRNA が他臓器の機能低下を誘導する」という仮説のもと、メカニカルストレスの増減に伴って変動する ncRNA の同定と、同定した ncRNA が他臓器の機能低下に与える影響の解明を目指す。さらに、宇宙航空研究開発機構 (JAXA) と共同で、究極の非荷重状態である宇宙微小重力空間で飼育されたマウスの血中 ncRNA 解析を世界に先駆けて実施する予定であり、宇宙実験に向けた準備も進めていく。

4. 研究成果

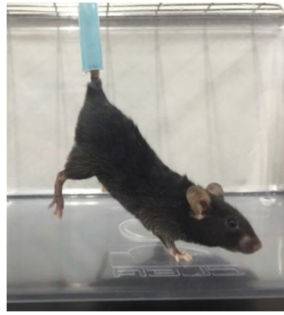
1) 筋骨格系由来のエクソソームを単離する技術の開発

複数の筋骨格系細胞株を大量培養し、その培養上清から超遠心法にてエクソソームを単離した。単離したエクソソームの表面抗原解析を行い、筋骨格系細胞由来エクソソームに特異的な表面抗原の候補を明らかにした。現在、同定した特異的表面抗原に対する抗体を用い、血液中から筋骨格系由来エクソソームを単離する技術の確立を進めている。

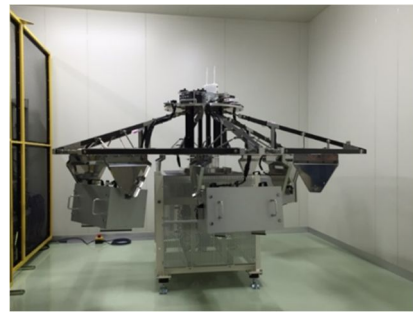
2) メカニカルストレスや重力の変化に伴って変動する血液中 ncRNA の同定

尾部懸垂後肢免荷マウス (尾部懸垂にて後肢へのメカニカルストレスを減少させ、後肢の骨量・筋量を低下させたマウス) および人工過重力環境飼育マウス (人工過重力環境飼育装置を用いて 2G および 3G の重力を負荷したマウス) より血液を採取した。血液中のエクソソームを単離し、ncRNA の網羅的発現解析を実施することで、メカニカルストレスや重力の変化に伴って変動する ncRNA を複数同定した。

また、宇宙航空研究開発機構 (JAXA) と共同で、宇宙微小重力環境飼育マウスからの血液採取と血液中 ncRNA の網羅的発現解析を実施することを計画しており、宇宙実験に向けた一連の予備的検討を進めた。なお、マウスの宇宙ステーション「きぼう」への打ち上げは、2021 年 12 月頃に実現する見込みである。



尾部懸垂後肢免荷マウス



人工過重力環境飼育装置

3) 同定した ncRNA が他臓器の機能低下を誘導するメカニズムの解明

Web でアクセス可能なデータベース等を利用して、同定した複数の ncRNA の標的遺伝子および他臓器に対する生理作用を検討した。本研究では、筋骨格系の機能低下による二次的な加齢性疾患の発症に主眼をおいているため、特に脳機能および心血管に影響を与えうる ncRNA にフォーカスした。さらに、同定した ncRNA による標的臓器の機能低下のメカニズムを *in vitro* 実験を通して検討した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Aihemaiti Aidehamu, Yamamoto Naoki, Piao Jinying, Oyaizu Takuya, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Okawa Atsushi, Miyata Toshio, Tsuji Kunikazu, Ezura Yoichi, Asou Yoshinori	4. 巻 534
2. 論文標題 A novel PAL-1 inhibitor prevents ageing-related muscle fiber atrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 849 ~ 856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.10.089	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 Kobayashi Yutaka, Tanaka Tomoyuki, Mulati Mieradilli, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Kaldis Philipp, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi, Inose Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Cyclin-Dependent Kinase 1 Is Essential for Muscle Regeneration and Overload Muscle Fiber Hypertrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 564581
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.564581	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 Suehara Yoshiyuki, Kohsaka Shinji, Hayashi Takuo, Akaike Keisuke, Kurisaki-Arakawa Aiko, Sato Shingo, Kobayashi Eisuke, Mizuno Sho, Ueno Toshihide, Morii Takeshi, Okuma Tomotake, Kurihara Taisei, Hasegawa Nobuhiko, Sano Kei, Sasa Keita, Okubo Taketo, Kim Youngji, Mano Hiroyuki, Saito Tsuyoshi	4. 巻 479
2. 論文標題 Identification of a Novel MAN1A1-ROS1 Fusion Gene Through mRNA-based Screening for Tyrosine Kinase Gene Aberrations in a Patient with Leiomyosarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Orthopaedics & Related Research	6. 最初と最後の頁 838 ~ 852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/CORR.0000000000001548	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 -
1. 著者名 Kaku Takumi, Oh Yoto, Sato Shingo, Koyanagi Hirotaka, Hirai Takashi, Yuasa Masato, Yoshii Toshitaka, Nakagawa Tsuyoshi, Miyake Satoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Incidence of atypical femoral fractures in the treatment of bone metastasis: An alert report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone Oncology	6. 最初と最後の頁 100301 ~ 100301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbo.2020.100301	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 Kawabata Atsuyuki, Hirai Takashi, Tohara Ryo, Yuasa Masato, Inose Hiroyuki, Koyanagi Hirota, Sato Shingo, Utagawa Kurando, Hashimoto Jun, Okawa Atsushi, Yoshii Toshitaka	4. 巻 99
2. 論文標題 Surgical stabilization of spinal metastasis in diffuse idiopathic skeletal hyperostosis ("Mets-on-DISH")	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e20397 ~ e20397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000020397	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 佐藤信吾	4. 巻 10
2. 論文標題 ひとりじゃない、チームで行う骨転移診療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Joint Nerve	6. 最初と最後の頁 397 ~ 403
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 Mulati Mieradili, Kobayashi Yutaka, Takahashi Akira, Numata Hoashi, Saito Masanori, Hiraoka Yuichi, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Ezura Yoichi, Yuasa Masato, Hirai Takashi, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi, Inose Hiroyuki	4. 巻 130
2. 論文標題 The long noncoding RNA Crnde regulates osteoblast proliferation through the Wnt/ -catenin signaling pathway in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.115076	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 -

1. 著者名 Ozaki Kakeru, Yamada Takanori, Horie Tetsuhiro, Ishizaki Atsushi, Hiraiwa Manami, Iezaki Takashi, Park Gyujin, Fukasawa Kazuya, Kamada Hikari, Tokumura Kazuya, Motono Mei, Kaneda Katsuyuki, Ogawa Kazuma, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Kobayashi Yasuhiro, Shi Yun-Bo, Taylor Peter M., Hinoi Eiichi	4. 巻 12
2. 論文標題 The L-type amino acid transporter LAT1 inhibits osteoclastogenesis and maintains bone homeostasis through the mTORC1 pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaaw3921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aaw3921	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

1. 著者名 Supakul Sopak, Yao Kenta, Ochi Hiroki, Shimada Tomohito, Hashimoto Kyoko, Sunamura Satoko, Mabuchi Yo, Tanaka Miwa, Akazawa Chihiro, Nakamura Takuro, Okawa Atsushi, Takeda Shu, Sato Shingo	4. 巻 20
2. 論文標題 Pericytes as a Source of Osteogenic Cells in Bone Fracture Healing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20051079	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 佐藤信吾	4. 巻 34
2. 論文標題 骨転移とマイクロRNA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 28 ~ 32
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

1. 著者名 佐藤信吾	4. 巻 70
2. 論文標題 ペリサイト (血管周皮細胞) は多分化能を有し骨折治療に貢献する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床雑誌整形外科	6. 最初と最後の頁 788
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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5件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 佐藤信吾
2. 発表標題 デノスマブが支える運動器の健康 ~ 直ちに骨を守る行動を! ~
3. 学会等名 第60回関東整形災害外科学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、小柳広高、平井高志、湯浅将人、本橋正隆、大川淳
2. 発表標題 骨転移がん診療における整形外科医の存在意義
3. 学会等名 第69回東日本整形災害外科学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、橋本恭子、越智広樹、大川淳、三宅智
2. 発表標題 骨転移におけるがん細胞と骨の細胞とのコミュニケーション
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、荒井誠、越智広樹、砂村聡子、竹田秀、大川淳
2. 発表標題 骨細胞の長鎖ノンコーディングRNAによる骨代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤信吾、Supakul Sopak、八尾健太、越智広樹、橋本恭子、砂村聡子、竹田秀、大川淳
2. 発表標題 ペリサイト（血管周皮細胞）は多分化能を有し骨折治癒に貢献する
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2019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
研究協力者	越智 広樹 (Ochi Hiroki)		
研究協力者	村谷 匡史 (Muratani Masafumi)		

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