

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：35302

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K24056

研究課題名（和文）皮質骨への破骨細胞遊走性制御メカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the regulatory mechanism of osteoclast migration into cortical bone

研究代表者

梶川 修平 (Kajikawa, Shuhei)

岡山理科大学・獣医学部・助教

研究者番号：60846848

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：骨粗鬆症は高齢化と切り離せない要因による骨代謝バランスの崩壊を原因とし、超高齢社会である日本では約10人に1人が骨粗鬆症患者である。その治療に頻用されるビスホスホネート製剤は長期連用により主に皮質骨からなる大腿骨骨幹部に骨折が生じることが報告され、皮質骨制御機構解明が急務となっている。

本研究では、破骨細胞の遊走性を抑制するアクチン重合制御因子Profilin-1(Pfn1)に着目し、Pfn1がどのようにして破骨細胞遊走性を制御しているか解析した。その結果、Pfn1は分枝状アクチン線維形成を抑制することで破骨細胞の遊走性を抑えていることがわかり、上記の問題を解決する一助となることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢と切り離すことのできない骨粗鬆症は超高齢化社会にある日本では約10人に1人が罹患する。その治療にはビスホスホネート製剤がしばしば第一選択薬となるが、長期間の使用で主に皮質骨より構成される長管骨骨幹部の骨折リスクが上がることが知られており、未だ明確にされていない皮質骨量・質の制御機構解明が急がれている。本研究では皮質骨への破骨細胞浸潤制御に関わる可能性のある機構を明らかにし、骨量低下の新たな症治療ターゲット候補を提示した。

研究成果の概要（英文）：Osteoporosis, which is caused by a disruption in the balance of bone metabolism, affects about one in ten people in Japan. While bisphosphonates are most commonly used for osteoporosis treatment, it has been reported that prolonged use of bisphosphonates lead to fractures in the femoral diaphysis, which is mainly composed of cortical bone. Therefore, regulatory mechanisms of osteoclast differentiation, function and migration in cortical bone urgently need to be elucidated.

In this study, we focused on Profilin-1, a regulator of actin polymerization, to analyze how osteoclast migration is regulated. Our data indicate Profilin-1 negatively controls osteoclast migration by suppressing the protrusive structures based on branched actin filaments and provides a new therapeutic target for osteopenia.

研究分野：細胞生物学

キーワード：Profilin-1 破骨細胞 骨粗鬆症 分枝状アクチン線維

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は加齢、閉経、寝たきりなど、高齢化と切り離せない要因による骨代謝バランスの崩壊を原因とする。超高齢社会である日本ではおおよそ 10 人に 1 人が骨粗鬆症患者であり、今なお増加の一途をたどっている。その治療としては、主に破骨細胞の細胞死や形成不全を誘導するビスホスホネート製剤が用いられ、海綿骨量増加に大きな効果を発揮している。しかしながら、ビスホスホネート製剤の長期連用により主に皮質骨から成る大腿骨骨幹部に骨折が生じることが報告され、皮質骨の制御機構の解明が急務となっている。

申請者らは Cathepsin K-Cre を用いて破骨細胞特異的に Profilin1(Pfn1)を欠損させた Pfn1-cKO マウスを作製し、それらが骨量減少症を発症することを見出した。極めて面白いことに、その骨では、破骨細胞が通常ほとんど存在しない皮質骨に多く分布していることを明らかにした。Pfn1-cKO 破骨細胞はその遊走性の亢進が認められた (引用 1 : Kajikawa S et al., JBMR PLUS, 2019)。これらの研究結果から、Pfn1 が破骨細胞の皮質骨への遊走性の制御に寄与している、と考えられた。

2. 研究の目的

破骨細胞が皮質骨に遊走するメカニズムを解明することで、骨粗鬆症病態における皮質骨の骨量制御機構を解明することを目的とする

3. 研究の方法

(1) Pfn1 による破骨細胞の遊走に必要な細胞構造制御の可能性の検討

- ①遊走中の破骨細胞の細胞輪郭を形状により分類する
- ②①において作成した分類の割合 (細胞周囲長に対する) が Pfn1-cKO 破骨細胞で変化しているか、一時的な画像および経時的な動画を用いて検討する

(2) 破骨細胞輪郭と細胞遊走性の関係の検討

(1)において作成した分類のうち、特定の分類の割合の変化が破骨細胞の遊走性に影響を与えているかを調べる

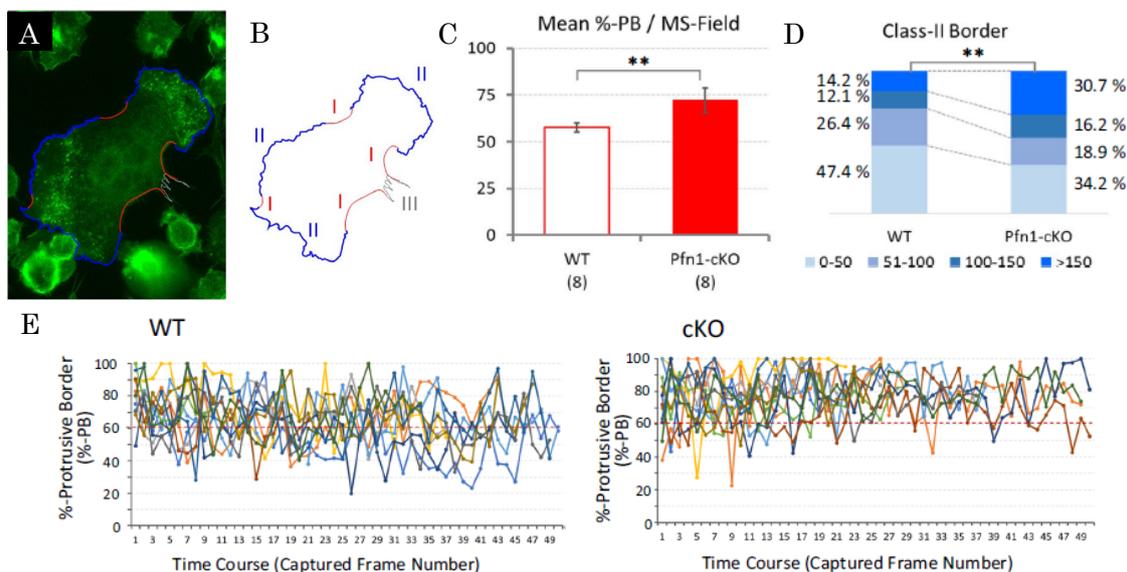
(3) Pfn1 による破骨細胞輪郭制御メカニズムの検討

Pfn1 によって制御されている可能性のあるアクチン線維の形状に着目し、その形成阻害を行うことで細胞の遊走性が変化するか調べる

4. 研究成果

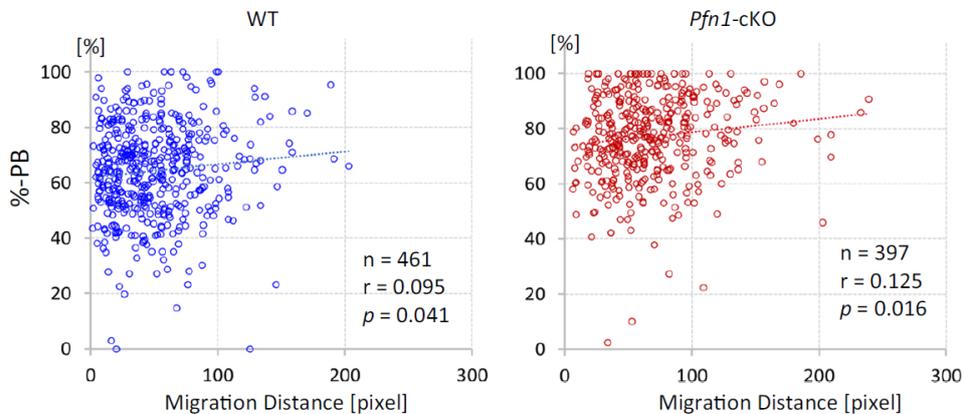
(1) 細胞遊走進行方向に大きく張り出すような細胞輪郭 (前方突出構造) が Pfn1-cKO 破骨細胞で増加している

野生型および Pfn1-cKO 破骨細胞の細胞形態を観察すると、細胞輪郭が異なる印象を受けたため、明視野および蛍光視野で顕微鏡観察を行い、独自の細胞輪郭分類 (下図 A, B) を作成した上で比較した。その結果、分類 II (前方突出部) の割合 (%-PB) や長い前方突出構造を有する破骨細胞数が Pfn1-cKO 破骨細胞において増加していることがわかった (下図 C, D)。またタイムラプス撮影により分類 II の経時的な変化を追跡したところ、野生型と比較し、Pfn1-cKO 破骨細胞で常に当該細胞輪郭形成が高く維持されていることがわかった (下図 E)。



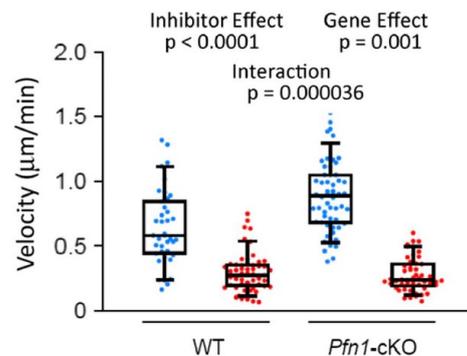
(2) 前方突出構造形成と細胞遊走性の間には正の相関が認められる

Pfn1-cKO 破骨細胞で形成が亢進していた前方突出構造の細胞周囲長に対する割合が高い細胞程、タイムラプス撮影時に1フレーム間に移動する細胞遊走距離が長かった。そのため、過去に我々が報告(引用1)したPfn1-cKO破骨細胞の遊走性増加は前方突出構造の亢進が原因と推測された。



(3) 分枝状アクチン線維は前方突出構造を構成しており、破骨細胞の遊走に必要である

アクチン蛍光染色像を観察したところ、前方突出構造には分枝状アクチン線維がしばしば分布していることがわかった(図1-A)。そこで分枝状アクチン線維を形成するのに必須の因子であるArp2/3を阻害する実験を行った。その結果、野生型、Pfn1-cKO破骨細胞いずれにおいても、その遊走性は顕著に抑制された(右図)。



以上の結果から、破骨細胞においてPfn1は分枝状アクチン線維形成を抑えることで細胞の前方突出構造形成を抑制し、その遊走性を負に制御していることがわかった(引用2:Kajikawa S et al., J Bone Miner Metab, 2022)。このことを考慮するとPfn1が上記メカニズムによって破骨細胞遊走性を適切に抑制していることで皮質骨への過度な破骨細胞分布が抑えられていると推測され、破骨細胞の異常分布に起因するような骨量低下症に対して分枝状アクチン形成の阻害が新たな治療ターゲットとなる可能性を示唆しており、現在その可能性を検討中である。

〈引用〉

1. Jumpei Shirakawa[†], Shuhei Kajikawa[†], Ralph T Bottcher, Mercedes Costell, Yayoi Izu, Tadayoshi Hayata, Masaki Noda, Yoichi Ezura. Profilin 1 Negatively Regulates Osteoclast Migration in Postnatal Skeletal Growth, Remodeling, and Homeostasis in Mice. JBMR PLUS, 2019 Jan 17;3(6):e10130. [†] These authors are equally contributed.
2. Shuhei Kajikawa, Yoichi Ezura, Yayoi Izu, Kazuhisa Nakashima, Masaki Noda, Akira Nifuji. Profilin-1 negatively controls osteoclast migration by suppressing the protrusive structures based on branched actin filaments. J Bone Miner Metab. Apr 15 2022

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 0件）

1. 著者名 Kajikawa Shuhei, Ezura Yoichi, Izu Yayoi, Nakashima Kazuhisa, Noda Masaki, Nifuji Akira	4. 巻 -
2. 論文標題 Profilin-1 negatively controls osteoclast migration by suppressing the protrusive structures based on branched actin filaments	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	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） 10.1007/s00774-022-01320-y	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 梶川修平、伊豆弥生、中嶋和久、二藤彰、江面陽一
2. 発表標題 分枝状アクチン線維形成抑制を標的とする骨吸収抑制戦略 - Profilin1遺伝子欠損マウスの検討から -
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 江面陽一、梶川修平、伊豆弥生、中嶋和久、野田政樹、二藤彰
2. 発表標題 Profilin1は直鎖状および分枝状アクチン線維形成制御により破骨細胞の突起形状を決定する
3. 学会等名 第40回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2022年～2023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	江面 陽一 (Ezura Yoichi)		

6. 研究組織（つづき）

	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	二藤 彰 (Nifuji Akira)		
研究協力者	中島 和久 (Nakashima Kazuhisa)		
研究協力者	野田 政樹 (Noda Masaki)		

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