

## 自己評価報告書

平成 23 年 3 月 31 日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20390406

研究課題名（和文） アルコール及び脂肪摂取による骨・骨髄機能関連障害の解明と防止法の開発

研究課題名（英文） Investigation of disorders of interaction between bone and bone marrow after intake of alcohol and fat

研究代表者

中村 利孝 (NAKAMURA TOSHITAKA)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号：50082235

研究分野：医学

科研費の分科・細目：外科・整形外科

キーワード：アルコール、脂肪、骨芽細胞、骨髄細胞、シグナル伝達、p21、wnt、アルデヒド脱水素酵素

## 1. 研究計画の概要

本研究の目的は、アルコール及び脂肪摂取が骨代謝に与える影響を組織から分子のレベルで明らかにし、骨の障害に対する防止法を開発することである。

(1) 高脂肪食摂取によって生じる骨代謝異常と骨芽細胞分化異常のメカニズムを明らかにする。実験には、野生型マウス及び脂質代謝異常が生じやすい ApoE 遺伝子欠損マウスを用いる。

(2) アルコール摂取によって生じる骨代謝異常と骨芽細胞分化異常のメカニズムを明らかにする。実験には、野生型マウス及びアルコール障害が生じやすいアルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスを用いる。

## 2. 研究の進捗状況

(1) ApoE遺伝子欠損マウスに高脂肪食を摂取させると、脛骨二次海綿骨における骨形成率は低下し、海綿骨量は減少する。このマウスの血清過酸化脂質濃度と血清LDL濃度は高く、これらの値と骨芽細胞におけるp53遺伝子発現は有意に正の相関を示した。ApoE遺伝子欠損マウスに高脂肪食を摂取させると、骨髄細胞中の骨芽細胞のp53遺伝子の発現が増加し、アポトーシスを生じ、骨芽細胞の分化・増殖に障害が生じることによって、骨形成が低下するメカニズムが考えられた。

(2) アルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスにアルコールを負荷した研究結果から、

骨髄細胞のp21遺伝子の発現が増加し骨芽細胞の細胞周期を停止することにより骨芽細胞分化を障害することが明らかとなった。現在、卵巣を摘出した（エストロゲンを欠乏させ脂質代謝異常をきたした）アルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスを用いて実験を行っている。

エストロゲン欠乏により亢進した骨代謝回転はアルコール負荷より抑制され、低下した骨量はさらに低下する。卵巣を摘出したアルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスでは、アルコール負荷により脛骨二次海綿骨量は減少するが、アルコール負荷に依存することなく、野生型マウスと比較して皮質骨の横径と面積を減少させる。皮質骨では、海綿骨と異なったシグナル伝達機構が骨の量と構造を制御している可能性がある。

骨形態計測により骨量、骨構造および骨代謝動態を評価する。未分化骨髄細胞から骨形成細胞と骨吸収細胞への分化について、骨髄細胞を採取し、遺伝子発現から解析する。以上の結果から、アルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損状態においてアルコールを負荷した場合に、エストロゲン欠乏が、骨芽細胞の分化と増殖の障害を増幅する否かを明らかにしていく予定である。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由) ApoE 遺伝子欠損マウスとアルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスを用いた実験モデルに特に問題がなく、病態が徐々に明らかになってきており、当初の計画通りに進んできていると考えている。

#### 4. 今後の研究の推進方策

現在、卵巣摘出したアルデヒド脱水素酵素遺伝子欠損マウスを用いて、骨の量と構造の制御システムを調べている。(1) この制御システムが、性とエストロゲン充足・欠乏状態に依存するか否かを明らかにする。(2) 海綿骨と皮質骨における部位特異的な遺伝子制御を明らかにする。皮質骨外面における骨形成（骨膜性骨形成率）に関連する遺伝子（wnt/ $\beta$ -cateninシグナル、スクレロスチン、ペリオスチンなど）の発現を中心に調べていく予定である。

以上の結果から、アルコール負荷や脂肪負荷が骨と骨髄細胞の連関に与える影響とその制御システムを明らかにする予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

（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5件）

- 1) Tanaka K, Sakai A, Nakamura T, et al. Deficiency of vitamin A delays bone healing process in association with reduced BMP2 expression after drill-hole injury in mice. *Bone* 47: 1006-1012, 2010. 査読有
- 2) 酒井昭典、中村利孝. 生活習慣病を合併した骨粗鬆症に対する SERM の骨折抑制効果. *Clinical Calcium* 20: 16-23, 2010. 査読無
- 3) Sakai A, Nakamura T, et al. Shorter unipedal standing time and lower bone mineral density in women with distal radius fractures. *Osteoporos Int* 21: 733-739, 2010. 査読有
- 4) Katae Y, Sakai A, Nakamura T, et al. Elcatonin injections suppress systemic bone resorption without affecting cortical bone regeneration after drill-hole injuries in mice. *J Orthop Res* 27: 1652-1658, 2009. 査読有
- 5) Yamane H, Sakai A, Nakamura T, et al. The anabolic action of intermittent PTH in combination with cathepsin K inhibitor or alendronate differs depending on the remodeling status in bone in ovariectomized mice. *Bone* 44: 1055-1062, 2009. 査読有

〔学会発表〕（計5件）

- 1) 清水勇樹、酒井昭典、中村利孝、ほか. アルコール負荷後の Aldh2 ノックアウトマウスでは、骨髄細胞が G2 期で停止し、骨芽細胞の石灰化形成が抑制され骨形

成が低下する. 第 25 回日本整形外科学会基礎学術集会. 2010 年 10 月 14 日. 京都（国立京都国際会館）.

- 2) 清水勇樹、酒井昭典、中村利孝、ほか. アルコール負荷後の Aldh2 ノックアウトマウスでは骨髄細胞が G2 期で停止し骨形成が低下する. 第 28 回日本骨代謝学会学術集会. 2010 年 7 月 21 日. 東京（京王プラザホテル）.
- 3) Sakai A, Menuki K, Nakamura T. Skeletal loading enhances osteoblast differentiation and inhibits adipogenic differentiation in bone marrow cells. International Symposium on Biophysical Stimulation on Bone and Fracture Healing. 2008 年 11 月 26 日. Kyoto (Kyoto International Conference Center).
- 4) Shimizu Y, Sakai A, Nakamura T, et al. Osteopenia by high alcohol consumption in the absence of ALDH2 attributes to the disturbance of the differentiation in osteoblasts. 30th Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research. 2008 年 9 月 15 日. Montreal, Quebec, Canada (Palais des congres de Montreal).
- 5) Tanaka S, Sakai A, Nakamura T, et al. High-fat diet facilitated decreases in BMD of ovariectomized mice and suppressed the anabolic effects of PTH on bone. 30th Annual Meeting of American Society for Bone and Mineral Research. 2008 年 9 月 13 日. Montreal, Quebec, Canada (Palais des congres de Montreal).

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

なし