

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09412

研究課題名（和文）炎症・死細胞因子と細胞外マトリクス連関を介した炎症性破骨細胞形成メカニズム

研究課題名（英文）Mechanisms of Inflammatory Osteoclast Formation Mediated by Inflammatory and Necrotic Cell Factors and Extracellular Matrix Interactions

研究代表者

朝霧 成拳（ASAGIRI, Masataka）

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：20372435

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、炎症環境における骨代謝変調メカニズムの解明を目的とした。まず、炎症下で活性化する破骨細胞に着目し、その分化・活性化の制御メカニズムに関する新知見を得るとともに、炎症性サイトカインや高血糖由来メチルグリオキサール（MGO）が未知の機序で骨代謝を攪乱することを同定した。またこの成果を基に、MGOが骨芽細胞の機能を阻害し、細胞外マトリクスのミネラル化を抑制することで骨形成を低下させることを解明した。これらの知見は、骨粗鬆症、関節リウマチ、また糖尿病に起因する骨病態等の病態解明に貢献するとともに、新規治療戦略の開発に繋がる可能性もあり、学会発表や論文発表を通じて発信した（一部、準備中）。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、加齢や疾患に伴う骨・関節破壊のメカニズム解明、特に炎症環境下での骨関連細胞の形成過程に着目する点で学術的に新規性が高い。従来着目されてこなかった細胞外マトリクスの役割や、炎症・死細胞因子の特性解明を通じ、骨・関節疾患の病態理解を深めることが期待される。さらに、本研究から得られた知見は、既存薬が無効な炎症性骨疾患に対する新たな治療標的の発見や、薬剤の効果を高める併用療法の開発に繋がり、骨関節疾患患者のQOL向上や医療費削減に貢献する社会的意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the mechanisms of dysregulated bone metabolism under inflammatory conditions. We initially focused on osteoclasts and gained insights into their differentiation and activation. We also identified that inflammatory cytokines and methylglyoxal (MGO), a metabolite derived from hyperglycemia, disrupt bone metabolism. Building upon these findings, we revealed that MGO impairs osteoblast function and inhibits extracellular matrix mineralization, leading to decreased bone formation. These findings contribute to our understanding of the pathogenesis of osteoporosis, rheumatoid arthritis, and diabetes-related bone disorders, and may pave the way for novel therapeutic strategies. These results have been disseminated through conference presentations and manuscript submissions (some in preparation).

研究分野：免疫薬理学・実験病理学

キーワード：細胞外マトリクス 関節リウマチ 歯周病 糖尿病 組織破壊 組織再構築 持続炎症 免疫学

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。

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会における運動器・硬組織の健康維持は喫緊の課題であり、骨粗鬆症、関節リウマチ、糖尿病に起因する骨病態、歯周病、などの骨・関節疾患は患者の QOL を著しく低下させる。これらの疾患では、炎症環境下における骨代謝の変調が病態形成に深く関与する。骨吸収を担う破骨細胞の分化・活性化機構は RANKL を中心とした研究により大きく進展したが、炎症環境下での破骨細胞の特異的な分化メカニズムは依然として不明な点が多い。また骨代謝において破骨細胞と協調する骨芽細胞の変調においても謎が多く、骨組織構成細胞の病的変化やその誘因を解明することは、直接的に治療標的分子を同定することにつながる。

2. 研究の目的

本研究では、炎症により性質が変化する骨関連細胞に着目し、その分化・活性化メカニズムを解明することを目指すとともに、従来の研究では見過ごされてきた、細胞外マトリクス (ECM) に内包される炎症関連因子、死細胞由来因子に着目し、炎症細胞と ECM の相互作用を介した骨代謝変調メカニズムを統合的に理解することで、新規治療標的の発見や既存薬の有効性改善に繋がる知見を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、炎症環境下で特異的に活性化する「炎症性破骨細胞」の性状解析を当初の軸として、炎症性骨疾患における骨破壊メカニズムの解明を目指した。まず、炎症性破骨細胞特異的な細胞表面マーカーや活性化因子を同定するため、細胞培養系やヒト疾患モデルを用いたサンプル採取を行い、網羅的遺伝子発現解析等を実施した。さらに、炎症部位における炎症因子、細胞死由来因子、その他の ECM 含有因子が骨代謝に及ぼす影響を明らかにするため、破骨細胞・骨芽細胞・その他の骨組織構成細胞などを用いた機能解析やタンパク質解析を行った。これらの解析を通じて、炎症環境下に存在する、破骨細胞や骨芽細胞の形成・活性化に関わる新規因子を同定し、それらの機能を阻害することで骨破壊を制御できる可能性を探索した。

4. 研究成果

骨粗鬆症、関節リウマチ、糖尿病が誘因となる骨折や骨折治癒の遷延、歯周病、などの様々な骨疾患・骨病態には、骨形成と骨吸収のバランスの乱れが関与することが明らかとなっている。本研究では、特に炎症環境下における骨代謝調節機構の解明を目指し研究を行った。まず、炎症環境下で特徴的に活性化する破骨細胞に着目し、その分化・活性化を制御する分子メカニズムを解析して一定の成果を得た。またこの重要な研究成果を敷衍した解析を行い、特定の炎症性因子 (サイトカインなど) や、高血糖関連因子メチルグリオキサール MGO が、骨代謝に大きな変調

を亢進させることを見出した。骨芽細胞を取り巻く ECM の組成変化が、骨形成に与える影響を検討したところ、MGO が骨芽細胞の機能を阻害し、ECM のミネラル化を抑制することで、骨形成を低下させることが明らかとなった。これらの破骨細胞関連の成果、骨芽細胞関連の成果は、炎症性骨疾患における骨破壊メカニズムの解明に貢献し、将来的には新規治療標的の同定や治療戦略の開発に繋がる可能性があり、学会発表・論文発表などで公表を行った(一部公表準備中)。

参考文献

Dantrolene, a ryanodine receptor stabilizer, is a candidate immunomodulator for treating rheumatic disease. Nawata T, Honda T, Sakai H, Tsuji S, Otsuka M, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M. *Scand J Rheumatol.* 2024 53:217-219. doi: 10.1080/03009742.2023.2297519.

Neural-net-based cell deconvolution from DNA methylation reveals tumor microenvironment associated with cancer prognosis. Yasumizu Y, Hagiwara M, Umezumi Y, Fuji H, Iwaisako K, Asagiri M, Uemoto S, Nakamura Y, Thul S, Ueyama A, Yokoi K, Tanemura A, Nose Y, Saito T, Wada H, Kakuda M, Kohara M, Nojima S, Morii E, Doki Y, Sakaguchi S, Ohkura N. *NAR Cancer.* 2024 6:zcae022. doi: 10.1093/narcan/zcae022.

Renoprotective effects of laxative linaclotide: Inhibition of acute kidney injury and fibrosis in a rat model of renal ischemia-reperfusion. Hitaka Y, Isoyama N, Tsuji S, Honda T, Nakayama Y, Yamaguchi M, Nakamura K, Hirata H, Shiraishi K, Asagiri M. *Biochem Biophys Res Commun.* 2024 709:149709. doi: 10.1016/j.bbrc.2024.149709.

Caveolin-1 forms a complex with P2X7 receptor and tunes P2X7-mediated ATP signaling in mouse bone marrow-derived macrophages. Sawai Y, Suzuki Y, Asagiri M, Hida S, Kondo R, Zamponi GW, Giles WR, Imaizumi Y, Yamamura H. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2024 326:C125-C142. doi: 10.1152/ajpcell.00303.2023.

Dantrolene, a stabilizer of the ryanodine receptor, prevents collagen-induced arthritis. Nawata T, Sakai H, Honda T, Otsuka M, Fujita H, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022 Oct 8;624:141-145. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.07.111.

Gene expression profiles of liver cancer cell lines reveal two hepatocyte-like and fibroblast-like clusters. Fukuyama K, Asagiri M, Sugimoto M, Tsushima H, Seo S, Taura K, Uemoto S, Iwaisako K. *PLoS One.* 2021 16:e0245939. doi: 10.1371/journal.pone.0245939.

Calcium/calmodulin-dependent regulation of Rac GTPases and Akt in histamine-induced chemotaxis of mast cells. Honda T, Nishio Y, Sakai H, Asagiri M, Yoshimura K, Inui M, Kuramasu A. *Cell Signal.* 2021 83:109973. doi: 10.1016/j.cellsig.2021.109973.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Yasumizu Y, Hagiwara M, Umezu Y, Fuji H, Iwaisako K, Asagiri M, Uemoto S, Nakamura Y, Thul S, Ueyama A, Yokoi K, Tanemura A, Nose Y, Saito T, Wada H, Kakuda M, Kohara M, Nojima S, Morii E, Doki Y, Sakaguchi S, Ohkura N.	4. 巻 6
2. 論文標題 Neural-net-based cell deconvolution from DNA methylation reveals tumor microenvironment associated with cancer prognosis.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 NAR Cancer.	6. 最初と最後の頁 zcae022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/narcan/zcae022.	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 Hitaka Y, Isoyama N, Tsuji S, Honda T, Nakayama Y, Yamaguchi M, Nakamura K, Hirata H, Shiraishi K, Asagiri M.	4. 巻 709
2. 論文標題 Renoprotective effects of laxative linaclotide: Inhibition of acute kidney injury and fibrosis in a rat model of renal ischemia-reperfusion.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 149709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2024.149709.	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 Nawata T, Honda T, Sakai H, Tsuji S, Otsuka M, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M.	4. 巻 53
2. 論文標題 Dantrolene, a ryanodine receptor stabilizer, is a candidate immunomodulator for treating rheumatic disease.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scand J Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 217-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/03009742.2023.2297519.	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 Sawai Y, Suzuki Y, Asagiri M, Hida S, Kondo R, Zamponi GW, Giles WR, Imaizumi Y, Yamamura H.	4. 巻 326
2. 論文標題 Caveolin-1 forms a complex with P2X7 receptor and tunes P2X7-mediated ATP signaling in mouse bone marrow-derived macrophages.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Am J Physiol Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 C125-C142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpcell.00303.2023.	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 Nawata T, Sakai H, Honda T, Otsuka M, Fujita H, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M	4. 巻 624
2. 論文標題 Dantrolene, a stabilizer of the ryanodine receptor, prevents collagen-induced arthritis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 141-145
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.07.111.	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 Honda T, Nishio Y, Sakai H, Asagiri M, Yoshimura K, Inui M, Kuramasu A.	4. 巻 83
2. 論文標題 Calcium/calmodulin-dependent regulation of Rac GTPases and Akt in histamine-induced chemotaxis of mast cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cellular Signalling (Epub 2021 Mar)	6. 最初と最後の頁 109973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cellsig.2021.109973	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 Fukuyama K, Asagiri M, Sugimoto M, Tsushima H, Seo S, Taura K, Uemoto S, Iwaisako K.	4. 巻 16
2. 論文標題 Gene expression profiles of liver cancer cell lines reveal two hepatocyte-like and fibroblast-like clusters.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0245939
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0245939	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13件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Masataka Asagiri
2. 発表標題 Dynamic な骨格系・骨代謝
3. 学会等名 第2回山口県骨代謝研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hina Takegami, Hiyori Nakamura, Ayano Takeda, Mayu Matsuo, Hiroki Sakai, Takeshi Honda, Masataka Asagiri
2. 発表標題 Synthetic retinoid bexarotene inhibits differentiation of inflammatory osteoclasts.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Seiya Tanaka, Asuka Okamoto, Honoka Tsubaki, Tetsuya Seto, Hiroki Sakai, Takeshi Honda, Masataka Asagiri
2. 発表標題 Inhibitory effect of spermidine on differentiation of inflammatory osteoclasts
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chika Ishida, Miren Suzuki, Hiroki Sakai, Masatoshi Takeiri, Yukino Tsunekage, Keiko Arai, Takeshi Honda, Seiya Tanaka, Naruto Noma, Keiko Iwaisako, Norohiko Takeda, Yoshihide Kimura, Masataka Asagiri
2. 発表標題 Suppression of M1 macrophage activation and osteoclast differentiation by Apocynaceae plant extract
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroaki Fuji, Keiko Iwaisako, Saki Ohkubo, Satoru Seo, Kojiro Taura, Masataka Asagiri, Noriko Sakaguchi, Simon Sakaguchi, Tatiana Kisseleva, David Brenner, Etsuro Hatano
2. 発表標題 THE ASSOCIATION OF REGULATORY T CELLS WITH TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES AND FIBROSIS IN NON-HCC LIVER CANCER
3. 学会等名 AASLD 2021: The Liver Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 朝霧成拳
2. 発表標題 硬組織疾患をターゲットとした創薬研究の過去と未来
3. 学会等名 第163回日本獣医学会学術集会 (日本比較薬理学・毒性学会 教育講演) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 朝霧成拳
2. 発表標題 骨代謝のホットトピック：骨の病気に挑む
3. 学会等名 第158回山口県医師会生涯研修セミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井大樹, 本田健, 小笠原康悦, 朝霧成拳
2. 発表標題 MMP阻害による筋分化の増強効果と老化細胞における増強効果の減弱
3. 学会等名 第94回日本薬理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬戸哲也、油形公則、本田健、朝霧成拳
2. 発表標題 糖化ストレスは骨芽細胞の石灰化能を低下させることで骨折治癒を抑制する
3. 学会等名 第41回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 瀬戸哲也、本田健、油形公則、上原和也、辻峻也、岩永隆太、藤井賢三、三原惇史、朝霧成拳、坂井孝司
2. 発表標題 Carbonyl誘導体は骨芽細胞の石灰化能を低下させることで骨折治癒を抑制する
3. 学会等名 第38回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 瀬戸哲也、油形公則、藤井賢三、三原惇史、上原和也、本田健、辻峻也、朝霧成拳、坂井孝司
2. 発表標題 Carbonyl誘導体が骨芽細胞機能に与える影響
3. 学会等名 第97回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 名和田 隆司, 朝霧 成拳
2. 発表標題 ダントロレンによるCollagen Induced Arthritisマウスの関節炎抑制効果の検証およびその機序の解明
3. 学会等名 第67回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 名和田 隆司, 朝霧 成拳
2. 発表標題 2型リアノジン受容体安定化による異常抗体産生抑制効果の検証
3. 学会等名 第68回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2024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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
カナダ	University of Calgary			