

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：32425

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K19513

研究課題名（和文）骨量維持機構で果たすマイクロRNAの役割

研究課題名（英文）The role of microRNA in the mechanism of bone mass maintenance

研究代表者

縣 右門（Agata, Umon）

日本薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：30809132

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,300,000円

研究成果の概要（和文）：骨量の変化をもたらすような運動がmicroRNAの発現に影響するのか、運動様式や強度あるいは期間の差がmicroRNA発現にどのような影響を与えるのかについて検討を行うことを目的とした。運動の違いによって骨密度のみならず骨質についても変化があることを確認した。また、それらの変化を食事摂取量の違いによっても確認することができた。運動や食事にかかわらず大腿骨や脛骨などの荷重骨サンプルにてtotalRNAの抽出に成功しており、さらにその中にmicroRNAなどsmallRNAを確認したことから今後の骨量維持におけるメカニズム解明に向けて検討を続ける予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

閉経後に顕著に表れる骨量低下や、骨折による寝たきり状態を予防および治療を行うことは重要な課題となっているが、骨量維持において骨代謝に関連した様々な細胞や分子間の相互作用が重要であることは自明である。本研究では運動の違いや食事摂取の違いによって変化する骨密度や骨質を検討し、それらの骨サンプルからmicroRNAの抽出を行っており、新たな骨量維持および改善における治療法あるいは予防法を確立するための基礎的知見として重要な意義があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to examine whether exercise that results in changes in bone mass affects microRNA expression and how differences in the type, intensity, and duration of exercise affect the mechanism of microRNA expression. We confirmed that there are changes not only in bone mineral density but also in bone quality depending on the exercises. These changes were also confirmed by differences in food intake. We have succeeded in extracting total RNA, including small RNA, from femur and tibia regardless of differences in exercise or food intake, and we plan to continue our studies to elucidate the mechanism of bone mass maintenance.

研究分野：運動生理学

キーワード：骨代謝 運動 食事

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

運動による生体への物理刺激は骨芽細胞分化促進や破骨細胞の分化抑制に寄与することが分かっており、骨量を維持および増進させるためには適度な運動が必要であることは良く知られている。一方で、これまで骨において microRNA(miRNA)の作用や影響を報告した論文は非常に少ない。軟骨細胞および軟骨基質を用いた著名な研究では、軟骨基質構成成分 aggrecan の分解促進分子である Adamts-5 や、骨細胞分化調節に関連した BMP シグナルの阻害分子である Dnpep の 3'UTR に miRNA が結合し、分子の分解あるいは翻訳を抑制しているといった報告がある(Miyaki et al. 2010; Nakamura et al. 2011)。

### 2. 研究の目的

骨における miRNA の作用メカニズムと、運動および物理刺激の関わりはいまだ明らかでない部分が多いため、本研究では骨量の変化をもたらすような運動が、miRNA の発現に影響するのかどうか、また運動様式や強度あるいは期間の差は骨密度や骨質と miRNA 発現のかかわりにおいてどのような影響を与えるのかについて検討を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究を計画した当初は、まずマウスあるいはラットを運動群および非運動群に分け、運動(物理刺激)の影響を受けやすい荷重骨を摘出後、骨サンプルから miRNA を抽出しどのような種類の miRNA が運動と骨量維持機構の相互に関わるかを検討する予定であった。しかし、荷重骨では運動のみならず食事摂取によっても骨密度や骨質などの骨強度パラメーターは多様に変化すること、またその変化とともに骨形成や骨吸収の骨代謝マーカーも変動することが知られているがいまだ明らかとなっていない部分が多い。このことから、今回の研究では運動様式や強度あるいは期間の差や食事摂取の違いが骨強度あるいは骨代謝マーカーにどのような影響を与えるか、またそのような骨サンプルから miRNA を含め高品質の RNA 抽出ができるのかを検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 食事摂取制限と自発走運動による脛骨骨質の変化

食事摂取制限と長期自発走運動がラット荷重骨の骨質に与える影響について検討を行った。脛骨骨幹部の結晶化度においておよそ3か月間の自発走運動による主効果は認められたものの食事制限による主効果やそれらの相互作用は認められていない。一方ミネラル・マトリクス比において運動と食事制限の有意な相互作用が認められた。すなわち Sedentary + 食事制限(FR)群は Sedentary + 自由摂食の群より有意な高値を示し、Exercise + 食餌制限(FR)群は Sedentary + 食事制限(FR)の群よりも有意な低値を示した。これらの結果からラットにおける長期間の自発走運動と食事制限は単独、あるいは相互に作用して骨質に該当する骨化学的特性に影響を与えることが明らかとなった。

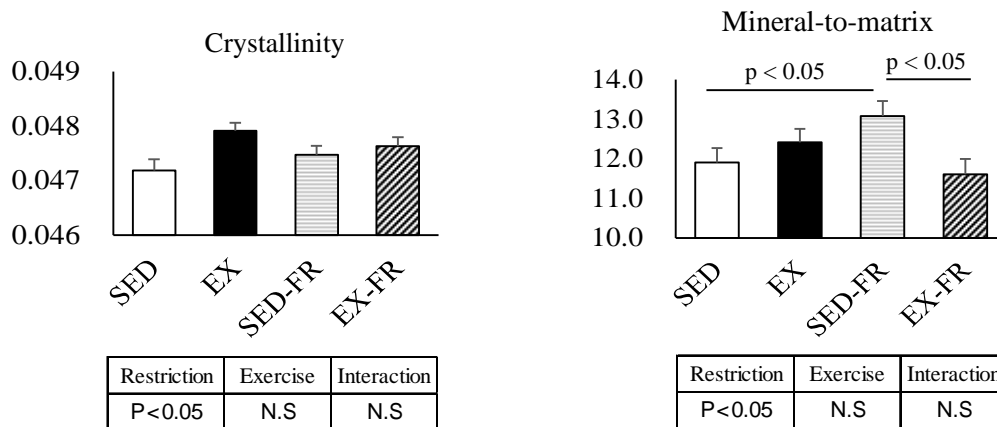


図1 食事摂取制限と自発走運動による脛骨骨質の変化

### (2) 食事摂取制限とトレッドミル走による脛骨と骨代謝マーカーの変化

食事摂取制限と短期トレッドミル走がラット荷重骨の脛骨骨密度と骨代謝マーカーの変化に与える影響について検討を行った。体重および脛骨骨密度は食事制限の有意な主効果により減少した。血液中骨代謝マーカーのうち骨型アルカリフォスファターゼ(Bone-ALP)値は食事制限と運動の有意な主効果を認め、また相互作用が確認された。一方酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ(TRAP)では食事制限のみ有意な主効果を示した。これらの結果から比較的短期間の食事摂取制限と運動量も少ないトレッドミル走であってもそれぞれの効果あるいは相互作用によってラットの骨代謝パラメーターは変化を起こすことが明らかとなった。

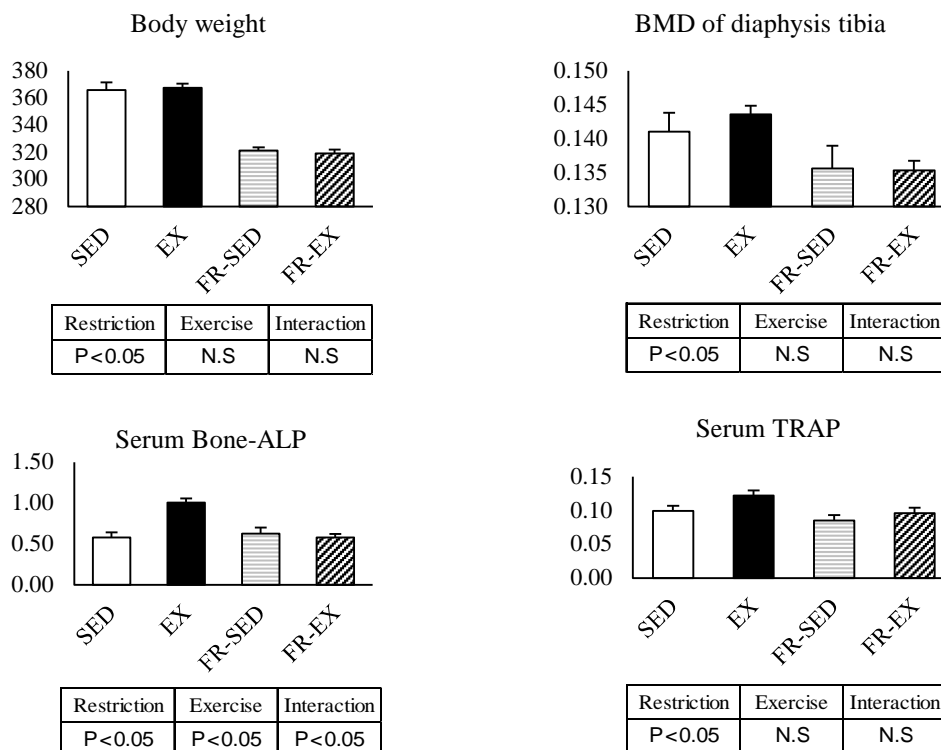


図2 食事摂取制限とトレッドミル走による脛骨と骨代謝マーカーの変化

(3)骨組織からのRNA抽出においては、保存方法や抽出方法などのプロセスが非常に重要であるが、本研究では摘出した大腿骨および脛骨で様々なRNA抽出法の検討を行っている。骨のような硬組織から抽出したtotal RNAはごく微量ながらも、このサンプルについてRT-PCRを

実施すると、骨特異的なバンドが確認できたことから高品質の RNA 抽出ができたと考える。またそれら totalRNA の中に miRNA を含む smallRNA の存在も確認している。

以上の結果から、どのような運動様式や強度あるいは期間であっても、また食事摂取量にかかわらず骨強度を指標とした様々な骨代謝パラメーターは変化することが示唆された。またそのような大腿骨あるいは脛骨のような荷重骨でも miRNA が確実に抽出でき、今後の検討に活かしていくことができる可能性が示された。

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 Aikawa Yuki, Noma Yuich, Agata Umon, Kakutani Yuya, Hattori Satoshi, Ogata Hitomi, Kiyono Ken, Omi Naomi	4. 巻 27
2. 論文標題 Running exercise and food restriction affect bone chemical properties in young female rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Physical Activity and Nutrition	6. 最初と最後の頁 062 ~ 069
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.20463/pan.2023.0019	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Umon Agata, Yuki Aikawa, Yuich Noma, Yuya Kakutani, Satoshi Hattori, Hitomi Ogata, Ken Kiyono, Naomi Omi.
2. 発表標題 Influence of running exercise and food restriction on bone chemical properties in young female rats.
3. 学会等名 ARIHHP Human High Performance International Forum 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Umon Agata, Kazuki Kioka, Yusuke Koga, Yuki Aikawa, Naomi Omi.
2. 発表標題 Examination of bone metabolism and iron metabolism in relative energy deficiency in rat.
3. 学会等名 ARIHHP Human High Performance International Forum 2024（国際学会）
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
---------	---------