

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 11 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24790640

研究課題名(和文) 心臓性突然死におけるオステオプロテゲリン遺伝子発現の解析

研究課題名(英文) Analysis of osteoprotegerin gene expression in regard to cardiac sudden death

## 研究代表者

近藤 武史 (Takeshi, Kondo)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：20335441

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)：当該研究においては、平成17年度から平成23年度まで行ってきたOPG研究を継続させると共にそれを発展させ、法医解剖例での解析からOPGの心臓性突然死における役割を解析した。法医解剖症例において血清中のOPG蛋白をELISA法により解析し、心筋組織(ホルマリン固定パラフィン包埋)においてOPGの発現及びその受容体であるRANKの発現を検討した。他臓器でのOPG発現も検討した。平成28年6月の日本法医学会学術全国集会でその研究成果の一端を報告予定である。また、期間中にOPG発現の調節機構の解析の一環として共同研究していたsFRP遺伝子発現との関係についての研究成果がPLoS One誌に掲載された。

研究成果の概要(英文)：Osteoblasts/stromal cells secrete osteoprotegerin (OPG), which is a soluble member of the TNF receptor superfamily. OPG acts as a decoy receptor for RANKL, thereby preventing its interaction with the cognate receptor RANK. OPG is known to be expressed not only in bone tissue but also in many other tissue types, including myocardium. Recently, OPG has been reported to be associated with various cardiac diseases. The present study analyzed the serum OPG concentration in forensic autopsy cases (including those of cardiac sudden death). In particular, the expression of OPG and its receptor RANK were evaluated by immunohistochemistry of the myocardium. The results of this study will be presented in the 100th Congress of the Japanese Society of Legal Medicine (Tokyo, 2016). In addition, a collaborative study regarding mouse OPG gene expression and the sFRP gene has been published in PLOS ONE (Mori et al. 2014).

研究分野：法医病理学

キーワード：OPG

## 1. 研究開始当初の背景

破骨細胞抑制因子オステオプロテゲリン Osteoprotegerin (以下 OPG) は、1997 年にクローニングされたサイトカインで、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーに属する細胞膜貫通領域を持たない分泌蛋白である。OPG は骨芽細胞/ストローマ細胞によって産生・分泌される。

OPG は破骨細胞分化因子 RANKL とそのレセプターである RANK との結合をおとり受容体 (デコイレセプター) として阻害し、破骨細胞形成を抑制する。このように破骨細胞の分化には、正に制御する RANKL と負に制御する OPG の二つの因子が重要であり、この二つの因子の reciprocal な調節が骨代謝の恒常性を維持する上で重要と考えられる。OPG は、骨粗鬆症などの様々な骨代謝性疾患、癌の骨転移形成などの病理病態にも深く関わっており、OPG の発現調節機構を解明することは疾患の病態解明や治療戦略の標的という点で非常に意義深い。

近年、血管壁石灰化は石灰成分の受動的沈着ではなく、骨代謝に類似した血管壁の能動的な活動によって生じるという考え方が生まれ、骨代謝関連因子の血管壁における役割への関心が高まっている。その中で OPG は強力な血管石灰化抑制作用や動脈壁保護作用を持つことが知られており、種々の心疾患や心不全の病態にも関与しているとする報告が出てきている。OPG の血中濃度は種々の心臓の疾患に相関していることが文献上も知られている。法医解剖における死因究明では心臓性の突然死が問題となっており、OPG の作用の中でも血管石灰化におけるその役割は心臓性突然死に密接に関与している。

本研究は、骨代謝系の分子と循環器系のクロストークという意味で、骨代謝で重要とされる分子の解析を心血管系へと展開し、死因究明にも資する研究として開始した。

## 2. 研究の目的

当該研究では、骨代謝制御を司るおとり受容体 (デコイレセプター) として知られる OPG に着目し、法医解剖例での解析から、OPG の心臓性突然死における役割を解析する。

## 3. 研究の方法

本研究計画では、骨代謝制御を司るおとり受容体である OPG の心血管系における役割を解析し、以下の点について詳細な解析を加える予定であった。

A) OPG の血清濃度を心臓性急死の死因に応じて測定、分析する。

B) 免疫組織化学や *in situ* hybridization を用いて、心筋組織や血管平滑筋組織における OPG 発現を解析する。

C) 培養細胞レベルでの OPG の転写調節機構の解析を行う。

## 4. 研究成果

当該研究においては、骨代謝制御を司るおとり受容体 (デコイレセプター) として知られる OPG に着目し、法医解剖例での解析から、OPG の心臓性突然死における役割を解析した。本研究計画では、平成 23 年度まで行ってきた OPG 研究を継続させると共にそれを発展させ、法医解剖における心臓性突然死に重点を移しつつ、心血管系における OPG の役割を解析した。平成 19 年度まで遂行していた科学研究費補助金 (平成 17 ~ 平成 19 年度、若手研究(B)、ステロイドホルモンによるオステオプロテゲリン(OPG)遺伝子発現調節機構、課題番号 (17790266)、研究代表者:近藤武史)による研究、及び平成 23 年度まで継続中の科学研究費補助金 (平成 20 ~ 平成 23 年度、若手研究(B)、骨形成・骨吸収に関与するおとり受容体の解析:前立腺癌とその骨転移における役割、課題番号 (20790283)、研究代表者:近藤武史)による研究を更に発展させるために、法医解剖症例において血清中の OPG 蛋白を ELISA 法により解析すると同時に、心筋組織 (ホルマリン固定パラフィン包

埋)において OPG 及びその受容体 RANK の発現をみた。

虚血性心疾患、致死性不整脈、心筋症、心筋炎、血栓症などの死因に応じたサンプリングを順次進めた。現時点では死因と OPG 濃度との有意な相関関係を認めていないが、今後もサンプリング・測定を継続予定である。

OPG 発現解析の対象臓器としては心筋および血管平滑筋を主な対象とした。OPG 蛋白発現はその他の臓器にも遍在することが知られているので、種々の臓器でも解析を進めた。その結果、脾臓の血球細胞及び脾臓組織において興味深い OPG 発現パターンを認め、解析を続けている。

また、OPG 発現の調節機構の解析の一環として共同研究していた sFRP-4 遺伝子発現との関係についての研究成果が PLoS One 誌に掲載された(下記業績 5)。

次年度平成 28 年度の科学研究費補助金(基盤研究 C、心臓性突然死における OPG-RANKL 軸の解析)による研究につなげるべく、平成 28 年 6 月の日本法医学会学術全国集会でその研究成果の一端を報告予定である。

## 5. 主な発表論文等

(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 9 件)

1. An autopsy case of cardiac tamponade caused by a ruptured ventricular aneurysm associated with acute myocarditis. Kondo T, Nagasaki Y, Takahashi M, Nakagawa K, Kuse A, Morichika M, Sakurada M, Asano M, Ueno Y. Leg Med (Tokyo). 18, 査読有, 2016, 44-8. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.12.002.

2. Autopsy case of undiagnosed gangliocytoma in the medulla oblongata complicated with cerebral palsy. Takahashi M, Kondo T, Morichika M, Kuse A, Nakagawa K, Asano M, Ueno Y. Leg Med (Tokyo). 19, 査読有, 2016, 19-21. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.07.009.

3. Rupture of massive coronary artery aneurysm resulting in cardiac tamponade. Kondo T, Takahashi M, Nakagawa K, Kuse A,

Morichika M, Sakurada M, Asano M, Ueno Y. Leg Med (Tokyo). 17, 査読有, 2015, 388-90. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.05.006.

4. Unexpected neonatal death caused by interrupted aortic arch, an uncommon congenital great vessel malformation: An autopsy case report. Takahashi M, Kondo T, Morichika M, Kuse A, Nakagawa K, Sugimoto M, Asano M, Ueno Y. Leg Med (Tokyo). 17, 査読有, 2015, 340-2. doi: 10.1016/j.legalmed.2015.03.008.

5. Diabetic osteopenia by decreased  $\beta$ -catenin signaling is partly induced by epigenetic derepression of sFRP-4 gene. Mori K, Kitazawa R, Kondo T, Mori M, Hamada Y, Nishida M, Minami Y, Haraguchi R, Takahashi Y, Kitazawa S. PLoS One. 9, 査読有, 2014, e102797. doi: 10.1371/journal.pone.0102797.

6. An autopsy case of a ruptured pseudoaneurysm of the ascending aorta complicated by previous cardiac surgery for ventricular septal defect. Takahashi M, Kondo T, Morichika M, Nakagawa K, Kuse A, Asano M, Ueno Y. Leg Med (Tokyo). 16, 査読有, 2014, 293-6. doi: 10.1016/j.legalmed.2014.05.003.

7. Duodenal gastric heterotopia, sporadic or fundic gland polyp-associated, frequently carries  $\beta$ -catenin mutation. Nakagawa M, Kitazawa R, Kondo T, Ninomiya K, Okita M, Haraguchi R, Kitazawa S. Virchows Arch. 465, 査読有, 2014, 253-6. doi: 10.1007/s00428-014-1612-8.

8. Estimates of exposure to cold before death from immunohistochemical expression patterns of HSP70 in glomerular podocytes. Sakurada M, Asano M, Takahashi M, Kuse A, Morichika M, Nakagawa K, Kondo T, Ueno Y. Int J Legal Med. 127, 査読有, 2013, 783-90. doi: 10.1007/s00414-012-0806-3.

9. A p.D116G mutation in CREB1 leads to novel multiple malformation syndrome resembling CrebA knockout mouse. Kitazawa S, Kondo T, Mori K, Yokoyama N, Matsuo M, Kitazawa R. Hum Mutat. 33, 査読有, 2012, 651-4. doi: 10.1002/humu.22027.

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
：該当なし。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 武史 (KONDO, Takeshi)  
神戸大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：20335441

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：