

Analysis of relationship between proteins and external stimuli on bone formation/resorption

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-06-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Saijoh, Kiyoshi メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00051089

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



骨形成・代謝を司る蛋白と促進栄養因子の同定
並びに相互作用の解析

(課題番号：16590474)

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金（基盤研究（C））

研究成果報告書

平成18年3月

研究代表者 西條 清史

(金沢大学医学系研究科 教授)

金沢大学附属図書館



0800-04244-1

はしがき

従来より我々は、特定の細胞・組織のみに発現したり、特定の環境変化に応答して発現量が変化するような蛋白・遺伝子群の検出と機能解析を行ってきた。これら、蛋白・遺伝子群は、その部位のみの機能・応答を反映すると考えられるか同時に発現量そのものが稀少であったり、発現量変動も極く微細であると推定される。遺伝子発現量を決定すると考えられる転写因子の変動はさらに微細である。これらの微細な蛋白・遺伝子発現をとらえることは従来の方法では極めて困難であったが、subtraction hybridization や differential display のような高感度・高特異的手法が開発され単離しうるようになった。本研究ではこれらの手法を用い、特定の神経核や特定の臓器にのみ発現していたり、環境変化や化学物質の負荷により発現量・反応性の変化するような蛋白・遺伝子を同定することを第一の目標とし、同定された遺伝子がどのような転写調節をうけているのかをさらに明らかにすることで、その蛋白・遺伝子の機能を知ることを目的としている。

骨粗鬆症は高齢化が進む先進諸国全体の大きな問題であり、本邦においても重大な社会問題である。骨芽細胞・破骨細胞・骨細胞間の情報の受け渡しの有様を解明することは骨粗鬆症進展機構を解明し、予防に役立つと考えられる。哺乳類の骨は極めて硬いため全体として細胞間の情報連絡を観察するのは不可能であるばかりでなく、個々の培養細胞は存在しても、混在する培養細胞は稀にしかなく、わずかにある混在系でも本来の位置についての研究は不可能である。骨の分解・生成は重力の影響を強く受けるため「位置」を維持した上での研究が必須である。そこで、硬骨魚類では、骨は固定された組織であり、ウロコの方が、Ca の急激な変動により応答するとされていることに注目し、哺乳動物の骨芽細胞・破骨細胞の相互関係を検討するモデルとなりうるかについて検討した。

通常ウロコ非被覆部では、骨芽細胞は底辺にのみ局在し、皮膚被覆部では、皮膚最内側からウロコに向かって供給されている像が得られた。破骨細胞は皮膚被覆部の側辺でのみ共存し、側方への過剰延長を抑制的に制御していることが明らかになった。また、創傷部位への破骨細胞の浸潤や、再生ウロコで破骨細胞による間隙の作成と同部位への骨芽細胞の侵入による活発な再生像が確認された。一方、側線管周囲に骨芽細胞・破骨細胞が集中し、側線神経周辺のウロコを極めて薄い状態に維持していることも見い出した。この側線管形態維持に関わる遺伝子としてハエの羽根に切り込みをいれる遺伝子として発見された notch に相同性のある mRNA や、アポトーシス誘導シグナルやアポトーシスカスケードに

関わる酵素をコードすると考えられる mRNA 或いは逆にアポトーシス抑制因子の mRNA などが得られた。側線管・神経はソナーの役割をになっており、側線ウロコは骨の代謝研究に資するのみならず、末梢感覚神経の発達の解明にも役立つと考えられた。哺乳類と異なり、遺伝子配列がかならずしもいられていないために、これら mRNA の全長を得て、配列決定を行うとともに蛋白として発現できるようサブクローニングを行った。

また、VitK2 を哺乳類骨芽細胞に投与すると増殖が抑制されるとともに、骨形成マーカーである osteocalcin, osteoprotegrin, NF-kB ligand(RANKL)などが強発現することから、従来言われている osteocalcin を Gla 化することで骨代謝に関与するばかりでなく直接的に、骨への分化を促進する作用のあることを明らかにし報告した。類似の作用はウロコにおいても認められるうえ、ホルモンに対する応答も哺乳類と同様であった。ウロコは透明であるうえ、形を維持した全体培養も可能であり、観察しやすいという利点がありモデルとしての応用が可能であると考えられた。

研究代表者 西條 清史
(金沢大学医学部・教授)

研究組織

研究代表者：西條 清史 (金沢大学医学部・教授)

研究分担者：福永 龍繁 (三重大学医学部・教授) (初年度のみ)

研究経費

平成 16 年度 2,900 千円

平成 17 年度 700 千円

計 3,600 千円

学会誌等発表

1) Katsuyama, H., Ideguchi, S., Fukunaga, M., Fukunaga, T., Saijoh K. and Sunami, S. Promotion of bone formation by fermented soybean (Natto) intake in premenopausal women. *J Nutr Sci Vitaminol.* 50(2) 114-120 (2004) Apr

2) Katsuyama, H., Otsuki, T., Tomita, M., Fukunaga, M., Fukunaga, T., Suzuki, N., Saijoh, K., Fushimi, S. and Sunami, S. Menaquinone-7 regulates the expressions of osteocalcin, OPG, RANKL and RANK in osteoblastic MC3T3E1 cells. *Int J Mol Med.* 15(2) 231-236 (2005) Feb

3) Saijoh K, Kobayashi T, Nagano-Fujii M, Fujii S, katsuyama H. Multiple variant mRNA with different length tandem repeats of (CAYYCC)_n produced from bovine selenoprotein P-like protein gene. *Environ Hlth Prevent Med.* 10(2) 103-110 (2005) Mar

4) Komatsu N, Saijoh K, Toyama T, Ohka R, Otsuki N, Hussack G, Takehara K, Diamandis EP. Multiple tissue kallikrein mRNA and protein expression in normal skin and skin diseases. *Br J Dermatol.* 153(2) 274-281 (2005) Aug

5) 西條清史, 勝山博信。セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン: 5HT)。日本臨床。2005 Aug;63(Suppl 8) 411-416.

6) 西條清史, 勝山博信。5-ヒドロキシインドール酢酸(5HIAA)。日本臨床。2005 Aug;63(Suppl 8) 417-420.

7) Tanii H., Higashi T., Nishimura F., Higuchi Y., Saijoh, K. Induction of detoxication enzymes in mice by naturally occurring allyl nitrile. *J Agric. Food Chem.* 53(23) 8993-8996 (2005) Nov

8) Komatsu N, Saijoh K, Sidiropoulos M, Tsai B, Levesque MA, Elliott MB, Takehara K, Diamandis EP. Quantification of human tissue kallikreins in the stratum corneum: dependence on age and gender. *J Invest Dermatol.* 125(6) 1182-1189 (2005) Dec

口頭発表

1) Katsuyama H, Otsuki T, Abe S, Nishimura F, Fukunaga T, Suzuki N, Saijoh K, Fukunaga M, Sunami S. Effects of vitamin K2 on osteoblastic MC3T3E1 cell function. *Experimental Biology* 2004 April 17-21 2004 Washington, DC

2) 大山慶子, 阿部俊太郎, 西村房枝, 木村友伎子, 西條清史, 高津光洋, 福永龍繁。試料採取部位とエタノール濃度。第39回日本アルコール・薬物医学会総会 9-11 Sep 2004 東京

3) Nishimura FT, Abe S, Kimura Y, Saijoh K, Fukunaga T. Effect on alcohol metabolism in Japanese men of an A/G polymorphism in the promoter of the aldehyde dehydrogenase-2 gene. *12th World Congress on Biomedical Alcohol Research.* Sep 29-Oct 2 2004 Mannheim Germany.

4) 西條清史, 小松奈保子。Study on serine protease activity in human skin through the

research for Netherton syndrome; 皮膚の serine protease 活性と Netherton 症候群。第 4 回分子予防環境医学研究会 20-21 Dec 2004 東京

5) 西村房枝, 木村友伎子, 東朋美, 谷井秀治, 福永龍繁, 西條清史。飲酒時の心拍変動に及ぼすアルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子型の影響。第 75 回日本衛生学会総会 27-30 Mar 2005 新潟

6) 勝山博信, 大槻剛己, 三浦由恵, 井手口清治, 福永仁夫, 福永龍繁, 西條清史, 角南重夫。ビタミン K2 により誘導される骨芽細胞特異的因子の検討。第 75 回日本衛生学会総会 27-30 Mar 2005 新潟

7) Saijoh K., Suzuki N, Katsuyama H, Li L, Higashi T, Tanii H, Tamada-Nishimura F, Hattori A. Do goldfish scleroblasts correspond mammalian cells in bone? Experimental Biology 2005 2-6 Apr 2005 & XXXV International Congress of Physiological Sciences Mar 31- Apr 5 2005. San Diego CA

8) Komatsu N, Saijoh K, Sidiropoulos M, Tsai B, Levesque MA, Elliott MB, Takehara K, Diamandis EP. Quantification of human tissue kallikreins in the stratum corneum: dependence on age and gender. 66th Society for Investigative Dermatology Annual Meeting, May 4-7 2005

9) 勝山博信, 大槻剛己, 三浦由恵, 西條清史。某製造業におけるストレス状況の調査。第 78 回日本産業衛生学会 20-23 Apr 2005 東京

10) 西村房枝, 福永龍繁, 木村友伎子, 阿部俊太郎, 西條清史。アルデヒド脱水素酵素 2 遺伝子-361G/A 変異がアルコール代謝及び同遺伝子発現誘導に及ぼす影響。第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会 8-9 Sep 2005 金沢

11) Nishimura F, Fukunaga T, Abe S, Kimura Y, Katsuyama H, Tanii H, Higashi T, Saijoh K. The effects of polymorphisms of the genes related to catecholaminergic system on the cardiovascular responses induced by alcohol ingestion. Neuroscience 2005, the Society for Neuroscience 35th Annual Meeting, Visits Washington, DC, 12-16 Nov 2005

12) 勝山博信, 大槻剛己, 三浦由恵, 西村泰光, 福永仁夫, 伏見滋子, 西條清史, 角南重夫。エクオール産生と骨代謝の関連。第 76 回日本衛生学会総会 25-28 Mar 2006 山口 (宇部)

13) 東朋美, 京哲, 井上正樹, 西村房枝, 谷井秀治, 西條清史。卵巣がん特異的発現蛋白の発現調節解析。第 76 回日本衛生学会総会 25-28 Mar 2006 山口 (宇部)

シンポジウムコーディネーター

- 1) 西條清史。第 40 回日本アルコール・薬物医学会総会。8-9 Sep 2005 金沢
「アルコール・薬物依存とその個人差・個体差」
- 2) 西條清史。第 76 回日本衛生学会総会 25-28 Mar 2006 山口 (宇部)
「癌の遺伝子解析」