

令和4年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
	<input type="checkbox"/> 一般研究	<input type="checkbox"/>
研究課題名	副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) の手指骨形成における役割とその分子機序の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者： 近畿大学病院 歯科口腔外科 下出 孟史 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

副甲状腺ホルモン (PTH) と副甲状腺ホルモン関連タンパク (PTHrP) は、一部分の構造が類似しており、共通の受容体 (PTH/PTHrP 受容体) を介して作用する。しかし、PTH 遺伝子欠損マウスと PTHrP 遺伝子欠損マウスは、全く異なる表現型を呈するため、共通部分以外の領域にも、骨代謝・骨形成における重要な役割が存在する可能性がある。申請者は、間葉系幹細胞特異的に PTHrP 遺伝子を欠損させたマウスで、手指が変形することを発見した。本研究では、遺伝子組み換えマウスを用いて、PTHrP の、PTH と共通している部分以外の領域の、手指骨形成における役割について解明することを目的とする。

2. 研究経過及び成果

本研究では、副甲状腺ホルモン(PTH)と構造が類似し、PTH と共通の受容体(PTH/PTHrP 受容体:PTHR1)を介して作用する副甲状腺ホルモン関連蛋白(PTHrP)の骨格、手指形成における役割を検討している。

PTHrP と PTHR1、またその双方を、幼若骨芽細胞、成熟骨芽細胞、間葉系幹細胞特異的にノックアウトしたマウスを作製し、骨形成系細胞の異なる分化段階における PTHrP の役割を検討している。また、リガンド、受容体、双方をノックアウトした 3 種のマウスを比較することにより、リガンドとして作用する PTHrP の N 末端部の機能だけでなく、受容体を介さない作用を持つ可能性のある、PTHrP の中間領域+C 末端の機能についても検討している。

令和4年度に、前所属先のカナダ McGill 大学医学部にて作製した遺伝子組換えマウスの凍結保存精子の譲渡契約を締結し、輸入を行った。しかし、凍結保存精子から IVF により生体作成を行い、目的に遺伝子型のマウスを得られるまでには長期間を要する。そのため令和4年度は、前所属先より持ち帰ったサンプルの解析を行っている。

これまでに得られた結果について、『成熟骨芽細胞特異的』 PTHrP 欠損マウス (PthrpOB^{-/-})、PTHR1 欠損マウス (Pthr1OB^{-/-})、PTHrP+PTHR1 欠損マウス(PthrpOB^{-/-};Pthr1OB^{-/-})の 3 種の解析を行い、Pthr1OB^{-/-}マウスと PthrpOB^{-/-};Pthr1OB^{-/-}マウスは、野生型マウスと比較して体格が小さく、大腿骨長の有意な短縮を認めることがわかった。一方で、『幼若骨芽細胞特異的』 PTHrP 遺伝子欠損マウス(Pthrpob^{-/-})、PTHR1 欠損マウス(Pthr1ob^{-/-})、PTHrP+PTHR1 欠損マウス(Pthrpob^{-/-};Pthr1ob^{-/-})の表現型の解析においては、3 種のいずれのマウスも、野生型マウスより体格が小さく、大腿骨長の有意な短縮を認めた。

これらの結果を要約すると、以下の通りである。

#1 成熟骨芽細胞から PTHrP リガンドを欠損させても表現型に変化が無く、PTHrP の受容体、もしくはリガンド+受容体を欠損させると骨格の劣成長が生じた。

#2 幼若骨芽細胞から PTHrP リガンドを欠損させると骨格の劣成長が生じ、同様に受容体、リガンド+受容体を欠損させた場合にも骨格の劣成長が生じた。

#1、#2 より推察されることとして、幼若/成熟骨芽細胞が関与する骨格形成過程における PTHrP の作用方式について、成熟骨芽細胞における PTHR1 のリガンドは、Osterix 陽性幼若骨芽細胞に由来し、パラクリンにより作用する可能性が示唆された。なお、幼若/成熟骨芽細胞特異的に PTHrP や PTHR1 を欠損させた 6 種のマウスにおいて、手指の形成異常は認めなかった。

間葉系幹細胞特異的に PTHrP を欠損させたマウスでは手指の変形を認めるが、現在手元にあるサンプル数が非常に少なく、Preliminary な解析にとどまっている。詳細な解析を行うためのマウスは現在作成中である。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

現在、令和 4 年度に輸入した凍結保存精子をもとに、IVF による生体作成を行っている。得られたマウスを交配し、Prx1 陽性の間葉系幹細胞から PTHrP、PTHR1、PTHrP+PTHR1 を欠損させたマウスを作成し、手指骨や長管骨に表れる表現型について、形態学的、組織学的解析を行う予定である。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
第 40 回日本骨代謝学会学術集会	口頭発表	2022 年 7 月 22 日