





| 学部長 | 所属長 | 本部長 | 副本部長 | 室長 |
|---|---|---|---|---|
|  |  |  |  |  |

令和4年3月24日

理事長 殿

学長 殿

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症
対策支援プロジェクト研究報告書

標記の件に関しまして、別紙のとおり報告いたします。

また、本研究報告の内容は、近畿大学学術情報リポジトリ（KURepo）に公開する旨、承諾いたします。

| | |
|----------|---|
| 1. カテゴリー | <input checked="" type="checkbox"/> 研究 <input type="checkbox"/> 開発・提案 /カテゴリーNo 8 |
| 2. 企画題目 | コロナ禍での不動性骨粗鬆症の増悪に関する基礎的研究 |

研究代表者 河尾直之

所 属： 医学部 再生機能医学講座職・氏名： 講師 河尾直之

令和3年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

| | |
|----------|--|
| 企画題目 | コロナ禍での不動性骨粗鬆症の増悪に関する基礎的研究 |
| 研究者所属・氏名 | 研究代表者：医学部再生機能医学講座 河尾直之 共同研究者：医学部再生機能医学講座 梶 博史 |

1. 研究、開発・提案 目的及び内容

新型コロナウイルス（COVID-19）感染症の世界的流行に伴い、COVID-19 感染症が重症化しやすい高齢者を中心に外出を自粛する傾向が続いている。高齢者の外出自粛は、身体的活動のみならず社会的な交流も減少させるなどの問題を引き起こしている。このような背景から、要介護状態に至る前段階として位置づけられ、身体的脆弱性のみならず社会的脆弱性などの多面的な問題を含む状態であるフレイルの中核をなす疾患であるサルコペニア、さらにはフレイルとサルコペニアの両者に関連する骨粗鬆症の進行が危惧されており、これら疾患の病態解明や予防・治療の重要性はますます高まっている。近年、筋と骨に相互関連(筋・骨連関)が存在することが注目されているが、不動性のサルコペニアや骨粗鬆症の病態において重要なマイオカインやその調節機構については不明な点が多く、治療標的および新しいバイオマーカーとしての因子を明らかにする必要がある。本研究では、不動状態および運動において骨格筋で変動するシグナルを手がかりに、骨格筋から分泌される新しいマイオカインを同定し、筋と骨代謝の調節機構やコロナ禍における外出自粛に伴うサルコペニアと骨粗鬆症病態における意義を明らかにしたい

2. 研究、開発・提案 経過及び成果

運動によって発現量が増加する新規マイオカインの探索

運動負荷として、両側の卵巣を摘出した閉経後骨粗鬆症モデルマウスに8週間のトレッドミル運動（65-70% VO_{2max} ）を行わせた。運動負荷は卵巣摘出によって減少した大腿骨皮質骨密度を増加させた。速筋線維である IIb 型筋線維の豊富な腓腹筋と遅筋線維である I 型筋線維の豊富なヒラメ筋を摘出した後、RNA を抽出した。抽出した筋の RNA を用いて、次世代シーケンサーによって運動によって発現量が増加する体液性因子を探索した結果、peripheral myelin protein 22（PMP22）が抽出された。運動負荷は、腓腹筋およびヒラメ筋における PMP22 の mRNA およびタンパクレベルを増加させた。これらの結果から、PMP22 は運動負荷によって誘導される体液性因子であることが示唆された。

不動状態が骨格筋の PMP22 発現におよぼす影響

坐骨神経を切除した不動モデルマウスを用いて、不動状態が骨格筋の PMP22 発現量におよぼす影響を検討した。ヒラメ筋における PMP22 mRNA 発現量は坐骨神経切除によって有意に減少した。

PMP22 が破骨細胞形成におよぼす影響

PMP22 が体液性因子として骨吸収におよぼす影響を検討した。マウス骨髄細胞において、PMP22 は M-CSF および RANKL によって誘導される破骨細胞形成を有意に抑制した。さらに、PMP22 は M-CSF および RANKL によって増加した NFATc1、TRAP、カテプシン K、DC-STAMP の mRNA 発現量を減少させた。一方、PMP22 は M-CSF および RANKL によって減少した MafB と IRF-8 の mRNA 発現量を回復させた。さらに、PMP22 は M-CSF および RANKL によって増加したミトコンドリア酸素消費率および PGC-1 β を減少させた。これらの結果から、PMP22 は骨髄細胞においてミトコンドリア生合成を抑制することで破骨細胞形成を抑制することが示唆された。

PMP22 が骨芽細胞におよぼす影響

PMP22 が骨芽細胞機能におよぼす影響を検討した。PMP22 は新生児マウスから単離した骨芽細胞において、骨分化に関連する Runx2、Osterix、アルカリホスファターゼ、オステオカルシンの mRNA 発現量を減少させた。さらに、PMP22 は骨芽細胞のアルカリホスファターゼ活性および石灰化能を有意に抑制した。

PMP22 が筋細胞におよぼす影響

マウス由来筋芽細胞株である C2C12 細胞に PMP22 を過剰発現させることにより、PMP22 が筋細胞におよぼす影響を検討した。PMP22 過剰発現は馬血清による筋分化誘導によって発現が増加した MyoD、myogenin、myosin heavy chain (MHC)-I、MHC-IIb の mRNA 発現量に影響をおよぼさなかった。さらに、PMP22 は筋分解に関連する atrogen-1、MuRF1 mRNA 発現量および筋合成に関連するシグナルである Akt、p70 S6 キナーゼのリン酸化に影響をおよぼさなかった。

骨格筋における PMP22 発現量と骨密度との関連

単相関分析によって、実験に用いたコントロールおよび運動負荷マウスの骨格筋における PMP22 発現量と骨密度の関連を分析した。腓腹筋およびヒラメ筋における PMP22 mRNA 発現量は、大腿骨の皮質骨密度と有意な正相関を示した。

以上の研究結果から、マウスにおいて、PMP22 は破骨細胞形成を抑制する作用によって、運動負荷による骨量増加作用に寄与する新規なマイオカインであることが示唆された。さらに PMP22 は不動による骨量減少に寄与する可能性が考えられた。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・提案 計画

今後は、サルコペニアおよび骨粗鬆症の両者をおこす病態モデルである、マウス尾部懸垂と坐骨神経切除モデルにおいて、筋指標と骨代謝を解析することによって、不動によるサルコペニアおよび骨粗鬆症における PMP22 の寄与について検討する計画である。これらのマウスでの in vivo および in vitro の実験により、PMP22 の骨粗鬆症とサルコペニア双方の病態に関連することが示唆されれば、PMP22 がコロナ禍での不動性骨粗鬆症の予防・治療の標的となることが期待される。

4. 研究成果の発表等

| 発表機関名 | 種類 (著書・雑誌・口頭) | 発表年月日(予定を含む) |
|--|---------------|--------------------|
| 第 113 回近畿生理学談話会 | 口頭 | 2021 年 11 月 27 日 |
| 第 99 回日本生理学会大会 | 口頭 | 2022 年 3 月 16-19 日 |
| Journal of Cellular Physiology | 雑誌 | 2022 年 2 月 |
| 第 40 回日本骨代謝学会学術集会 | 口頭 | 2022 年 7 月 22-23 日 |
| The American Society for Bone and Mineral Research 2022 Annual Meeting | ポスター | 2022 年 9 月 9-12 日 |

5. 研究、開発・提案 課題の成果発表等

該当なし