

平成 25 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	■奨励研究助成金	□研究成果刊行助成金
	□21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	□21世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	組織線溶系による新規な骨・軟骨再生機構の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部 再生機能医学 助教 河尾直之 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

再生医療のうち、骨軟骨再生は最も臨床応用が進んだ分野であるが、効率よく骨形成を促進させ、骨軟骨再生医療に応用が可能な因子やその機構の解明が強く望まれている。本研究課題では、組織リモデリングに重要な役割を果たすことが知られる組織線溶系の骨軟骨再生過程における役割を明らかにし、組織線溶系を標的とした新規な骨・軟骨再生誘導法の確立を目的とする。

2. 研究経過及び成果

1) 骨修復における組織線溶系の役割

大腿骨骨欠損モデルを用いて、線溶系因子である組織型プラスミノゲンアクチベーター (tPA)、ウロキナーゼ型 PA (uPA)、PA インヒビター-1 (PAI-1)、 $\alpha 2$ アンチプラスミンの欠損マウスにおける骨修復を実験動物用 X 線 CT 装置によって検討した。野生型マウスと比較し、tPA 欠損マウスでは骨修復が著明に遅延した。一方、uPA、PAI-1、 $\alpha 2$ アンチプラスミン欠損マウスでは野生型マウスと比較して骨修復に差はなかった。

2) 骨修復過程の骨芽細胞増殖における tPA の役割

骨欠損部において、骨芽細胞数が野生型マウスと比較して tPA 欠損マウスで有意に減少した。さらに、BrdU 陽性骨芽細胞数が野生型マウスと比較して tPA 欠損マウスで有意に減少した。一方、骨欠損部位におけるアポトーシス細胞数に野生型マウスと tPA 欠損マウスで差はなかった。初代培養の検討で、tPA 欠損によって骨芽細胞増殖が減少したが、アポトーシスに差はなかった。さらに、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞において、tPA は ERK1/2 のリン酸化、細胞増殖を促進した。MEK 阻害剤、annexin 2 siRNA は tPA の増殖促進作用を阻害した。

3) 骨修復過程の血管形成における tPA の役割

骨欠損部位において、血管形成が野生型マウスと比較して tPA 欠損マウスで有意に減少した。さらに、骨欠損部位における低酸素誘導因子 (HIF)-1 α および血管内皮増殖因子(VEGF)の発現が野生型マウスと比較して tPA 欠損マウスで低下した。

以上の結果から、tPA が骨修復において重要な役割を果たすことが明らかになった。私共の以前に報告した骨芽細胞におけるプラスミノゲンの役割を考慮すると (J Bone Miner Res, 2013; 28:1561)、骨修復部位の骨芽細胞において、tPA がプラスミノゲン非依存性に annexin 2 と ERK1/2 シグナルを介する機序により増殖を促進することが示唆された。また、tPA は HIF-1 α および VEGF 発現を介して血管形成を促進させ、骨修復を促進することが示唆された。(図 1)

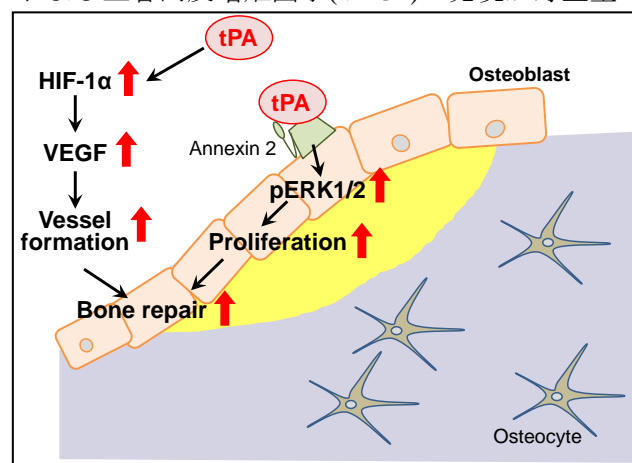


図1 骨修復過程におけるtPAの役割

3. 本研究と関連した今後の研究計画

これまでに、私共は組織線溶系の最も重要な因子であるプラスミノゲンの欠損マウスにおいて骨・軟骨形成が抑制され骨修復が遅延すると共に、骨修復部位へのマクロファージの集積が抑制されることを報告している。本研究課題から、tPA が骨修復に重要な役割を果たすことが明らかになった。そこで現在は、骨欠損部位へのマクロファージ集積における tPA や uPA の役割を検討しており、基礎的な知見が得られつつある。今後は骨修復過程におけるマクロファージの機能調節における組織線溶系の役割を明らかにする計画である。

最近、私共は糖尿病病態における骨修復の遅延に PAI-1 が寄与することを報告した。今後は糖尿病病態において、マクロファージ等の骨修復に関連する細胞での PAI-1 やその他の組織線溶系因子の役割を検討する計画である。

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)
米国骨代謝学会	ポスター	2013年10月5日
日本再生医療学会	口頭	2014年3月5日
日本薬理学会	口頭	2014年3月20日