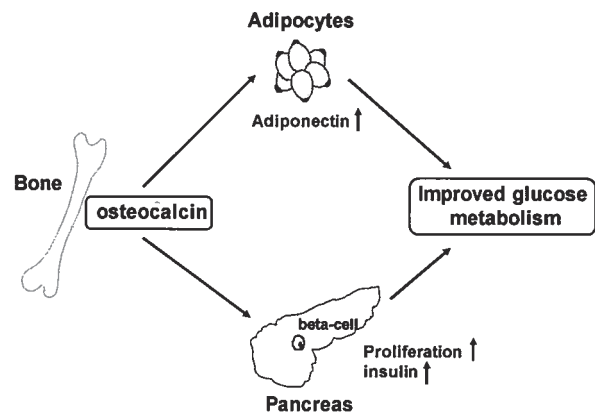


骨組織を標的としたメタボリックシンドロームに対する新規治療法の開発研究

金沢大学 医薬保健研究域薬学系 薬物学研究室
檜井 栄一

1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

従来、骨組織は骨形成を担う骨芽細胞と骨吸収を担う破骨細胞からなり、骨の質および量を維持する機能を担っていると考えられてきた。ところが近年、骨組織は骨量・骨質維持機能に加えて、様々な新規機能を有する証拠が複数の研究機関から報告されている。その中でも我々は、右図に示すように、骨組織から分泌されるオステオカルシンが膵臓・細胞や脂肪細胞に作用し、インスリンやアディポネクチン分泌を制御していることを明らかにした。そして骨組織が糖脂質代謝を内分泌作用により調節する



図：オステオカルシンは膵臓β細胞と脂肪細胞に作用し糖脂質代謝を調節する。

可能性を世界に先駆けて提唱した (Lee, Hinoi et al., *Cell* 2007)。この事実は、膵臓、脂肪、副腎あるいは卵巣等の既知の内分泌器官に加えて、骨組織もその一つとして脊椎動物の主要な生理機能の調節機構に関与することを示している。したがって本研究では、我々が提唱する全く新しい概念「内分泌器官としての骨組織」を基盤として、骨組織から分泌されるホルモン様分子を網羅的にスクリーニングし、かつ同定することを目的とした。

2. 方法

骨組織から分泌される分子を網羅的に探索する目的で、骨芽細胞をマウス頭頂骨より分離培養し、無血清培養液中で培養した。多くの分泌タンパク質は細胞外へ放出される前に糖鎖付加を受けるという性質を利用し、細胞表面のシェディング等による非特異的なタンパク質の検出を回避するため、回収した培養上清をレクチン親和性クロマトグラフィー (Concanavalin A affinity chromatography) にかけた。そして同クロマトグラフィーから溶出した糖たんぱく質を濃縮後に二次元電気泳動シゲル上に展開した。つづいてゲルからスポットを切り出しトリプシン消化後にペプチドを抽出し、質量分析装置 (MALDI-TOF/MS) で解析を行った。

また、糖脂質代謝を調節する骨芽細胞内因子を同定する目的で、オステオカルシンの発現制御を調節する因子に焦点をしばり、それらの骨芽細胞特異的遺伝子欠損マウスの作製と表現系解析

を行った。

3. 結果 研究成果

骨芽細胞の培養上清に分泌される因子を質 分析装置で解析した結果、Secreted frizzled-related sequence proteinやGrowth differentiation factor など、いくつかの分泌因子の同定に成功した。さらなる因子の同定を目的に現在も質量分析装置で解析中である。また、これまでに同定した上述の因子について、現在大腸菌や酵母等を用いて組み換えたんぱく質を作製中である。

また、骨芽細胞内においてオステオカルシンの発現調節を行うことが報告されている、転写制御因子 activating transcription factor 4 (ATF4)の骨芽細胞特異的遺伝子欠損マウス ($\alpha 1(I)$ collagen-Cre;Atf4^{fl/fl}マウス) を作製し、その表現系を解析した。その結果、骨芽細胞特異的ATF4遺伝子欠損マウスは、骨組織におけるオステオカルシンの産生の低下とともに、コントロールマウス ($\alpha 1(I)$ collagen-CreマウスやAtf4^{fl/fl}マウス) と比較して耐糖能の改善とインスリン感受性の亢進が観察された。

4. 考察 まとめ

本研究により、オステオカルシン以外の骨組織由来分泌因子の同定に成功した。今後はこれらの因子について、in vivoおよびin vitroの両面から糖脂質代謝に対する機能的役割を早急に調べる必要がある。このように、糖脂質代謝調節作用をもつオステオカルシン以外の骨組織由来分泌因子の同定と、その機能解析をすすめることにより、骨組織に作用点をもつ肥満や糖尿病等のメタボリックシンドロームに対する新たな治療法開発の可能性が期待される。

5. 発表論文、参考文献

1. Hinoi, E., Gao, N., Jung, D.Y., Yadav, V., Yoshizawa, T., Kajimura, D., Myers, M.G. Jr, Chua, S.C. Jr, Wang, Q., Kim, J.K., Kaestner, K.H. and Karsenty, G. An Osteoblast-dependent mechanism contributes to the leptin regulation of insulin secretion. *Ann. N.Y.Acad. Sci.* 2009, 1173:E20-30.
2. Yoshizwa, T*, Hinoi, E*, Jung, D.Y., Kajimura, D., Ferron, M., Seo, J., Graff, J.M., Kim, J.K. and Karsenty, G. The transcription factor ATF4 regulates glucose metabolism through its expression in osteoblasts. *J. Clin. Invest.* 2009, 119:2807-17. *Equally contributed.
3. Hinoi, E., Gao, N., Jung, D.Y., Yadav, V., Yoshizawa, T., Myers, M.G. Jr, Chua, S.C. Jr, Kim, J.K., Kaestner, K.H. and Karsenty, G. The sympathetic tone mediates leptin's inhibition of insulin secretion by modulating osteocalcin bioactivity. *J. Cell Biol.* 2008, 183:1235-42.

4. Ferron, M., Hinoi, E., Karsenty, G. and Ducy, P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008, 105:5266-70.
5. Lee, N.K., Sowa, H., Hinoi, E., Ferron, M. Ahn, J.D., Confavreux, C., Dacquin, R., Mee, P.J., McKee, M., Jung, D.Y., Zhang, Z., Kim, J.K., Mauvais-Jarvis, F., Ducy, P. and Karsenty, G. Endocrine Regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007, 130:456-69.