

ストレス応答異常が加齢に与える影響

[1] 組織

代表者：大西 素子
(中部大学応用生物学部)
対応者：田村 眞理
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 15万円，旅費0円

[2] 研究経過

<目的・概要>

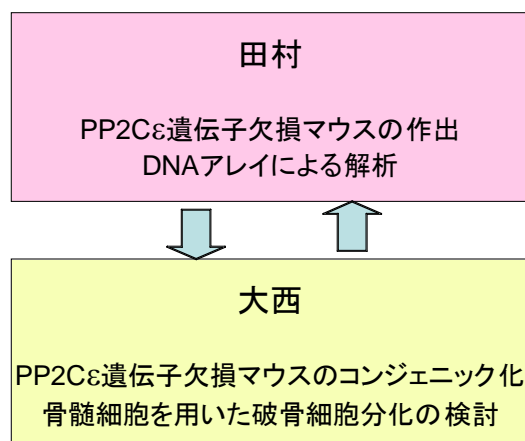
急速な少子高齢化が進み、1000万人以上の骨粗鬆症患者が存在する日本においては、高齢者のQOLを向上するため、その骨量の減少を防ぐことは重要である。骨粗鬆症を初め様々な代謝性骨疾患の治療法の開発には骨代謝の制御機構の解明が必要不可欠であるが、破骨細胞分化の抑制機構に関してはほとんど研究が進んでいない。

一方、破骨細胞分化因子(RANKL)に誘導されるシグナル伝達系の構成因子は、ストレス応答シグナル伝達経路のそれと共通するものが多い。本研究では、既にストレス応答シグナル伝達経路の制御に関わることが報告されているPP2Cεの破骨細胞分化における生理機能を解析し、その加齢に与える影響を検討することを目的として、研究を行なった。

<研究打合せ等開催状況>

2011年2月2日に研究成果のまとめと今後の研究方針について打合せを行なった。

参加者：大西素子、田村眞理、小林孝安



[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、PP2Cε遺伝子欠損マウスのC57/BL6のコンジェニック系統を樹立することができた。

第2に、このコンジェニック系統を用いて、PP2Cε遺伝子欠損マウスを作出した。遺伝子ヘテロ欠損マウスどうしの交配を全部で98回行なった結果、174匹を得たが、このうち遺伝子欠損マウスは19匹に留まり、メンデルの法則に予想数の44%足らずに留まった。さらにこのうち12匹は4週齢以前に死亡し、PP2Cεが発生や成長に関与している可能性が示唆された。

第3に、得られたPP2Cε遺伝子欠損マウスとその同腹仔を用いて、破骨細胞分化におけるPP2Cεの機能を検討した。まずマウスの大腿骨および脛骨から骨髄細胞を採取し、TGF-βおよびM-CSF存在下で培養することによって、骨髄マクロファージを誘導した。次にこの骨髄マクロファージを、RANKLおよびM-CSF存在下で72時間培養した後、固定し、酒石酸耐性産生ホスファターゼの活性と、4核以上の多核細胞数を計測することによって、破骨細胞分化に対する影響を検討した。RANKLによって誘導されるシグナル伝達経路ではp38やJNKなどが活性化されるが、これらのMAPキナーゼはストレス応答シグナル伝達経路でも活性化され、PP2Cεによって抑制制御されることが知られている。そのため、当初本実験ではPP2Cε欠損マウスでは、RANKLシグナル伝達経路が抑制されず、破骨細胞分化が亢進するのではないかと考えられたが、実験に用いた3組では破骨細胞分化が抑制される結果となった。

(3-2) 波及効果と発展性など

さらに遺伝子欠損マウスの個体数を増やして再現性を確認する必要があるものの、本共同研究で明らかになったPP2Cεの機能についての成果は、プロテインホスファターゼによる骨代謝の制御という新しい研究領域の開拓に結びつき、今後の骨代謝の制御機構の解明と新規骨代謝疾患治療薬の開発への発展が期待されている。

[4] 成果資料

(1)

Aburai N, Yoshida M, Ohnishi M, Kimura K. 2010. Sanguinarine as a Potent and Specific Inhibitor of Protein Phosphatase 2C in Vitro and Induces Apoptosis via Phosphorylation of p38 in HL60 Cells. *Biosci Biotechnol Biochem.* 74(3):548-552.

(2)

N. Aburai, M. Yoshida, M. Ohnishi, K. Kimura, 2010. Pisiferdiol and pisiferic acid isolated from *Chamaecyparispisifera* activate protein phosphatase 2C in vitro and induce caspase-3/7-dependent apoptosis via dephosphorylation of Bad in HL60 cells. *Phytomedicine.* 17(10):782-788.

(3)

油井信弘, 大西素子, 木村賢一, 2010. 植物由来のプロテインホスファターゼ 2C 活性制御物質. *バイオサイエンスインダストリー.* 68(4):256-256

(4)

油井信弘, 宮川都吉, 大西素子, 木村賢一. 2010. PP2C 活性化物質 pisiferdiol の Ca²⁺シグナル伝達に関わる遺伝子変異酵母に対する作用メカニズムの解析. 第5回ケミカルバイオロジー学会 (東京)