

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和２年度）

			機関番号	1 4 6 0 3
所属研究機関名称 奈良先端科学技術大学院大学				
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	助教		
	氏名	北川 教弘		

1．研究種目名

基盤研究(C)(一般)

2．課題番号

17K11008

3．研究課題名

Siglec-15-DAP12複合体の骨代謝における意義とその作用機構の解明

4．補助事業期間

平成２９年度～令和３年度

5．研究実績の概要

破骨細胞が分化し骨吸収活性を獲得するには、分化誘導因子RANKLとその受容体RANKを介したシグナル伝達経路とともに、一回膜貫通型タンパク質DAP12のITAMを介した共シグナル経路が必須である。DAP12は単独では機能せず、膜貫通領域を介して会合するDAP12会合受容体の制御下でITAMを介したシグナル経路は制御される。破骨細胞で発現するDAP12会合受容体は複数種が報告されていたが、研究代表者のグループはレクチン分子Siglec-15がDAP12会合受容体として必要であることを見出し、本研究を通じて、Siglec-15-DAP12複合体を、内在性DAP12を介さずに、一分子で模倣する改良型SSDKAを構築した。in vitro分化誘導系を用いた実験から改良型SSDKAはSiglec-15遺伝子欠損マウスおよびDAP12遺伝子欠損マウス由来細胞からの破骨細胞分化を回復することを明らかにした。さらに破骨細胞特異的な改良型SSDKAの発現によりSiglec-15遺伝子欠損マウスが呈する大理石骨病を回復することを明らかにしてきた。DAP12遺伝子欠損マウスはSiglec-15遺伝子欠損マウスと同様に骨吸収活性の低下による大理石骨病を呈する。そこで本年度はDAP12遺伝子欠損マウスと破骨細胞特異的に改良型SSDKAを発現するトランスジェニックマウスを交配し、DAP12遺伝子欠損条件下における改良型SSDKAの発現が骨組織および骨代謝に及ぼす影響を検討するため、各種遺伝子型マウスから脛骨および血清のサンプリングを行った。

6．キーワード

骨代謝 破骨細胞 シグナル伝達 免疫学 糖鎖

7．現在までの進捗状況

区分	(4)遅れている。
理由 DAP12遺伝子欠損条件下における改良型SSDKAの発現が骨組織に及ぼす影響を検討するため、破骨細胞特異的に改良型SSDKAを発現するDAP12遺伝子ヘテロ欠損（+/-，Tg）オスマウスとDAP12遺伝子ヘテロ欠損（+/-）メスマウスを交配した。この実験では、DAP12遺伝子欠損（-/-）メスマウスと、破骨細胞特異的に改良型SSDKAを発現するDAP12遺伝子欠損（-/-，Tg）メスマウスが統計的に解析しうるサンプル数（各遺伝子型で5匹以上）を必要とする。このため多くのマウスを交配し産仔を得る必要がある。 本年度は新型コロナウイルスの流行に伴い、研究代表者の所属機関における動物実験飼育施設への立ち入りが制限された。当時は新型コロナウイルスの流行の収束の先が見えず、本年度の一時期は交配実験を止むを得ず一時的に停止せざるを得なかった。本実験ではまず、1）μCTを用いた組織学的解析および採取した血清を用いた骨代謝マーカーの生化学的解析、を行った上で2）骨形態計測を外部機関に依頼すること、を計画していたが、1）の実験に十分なサンプルを得ることすらできなかった。以上の事情により、本研究は当初予定していた研究に遅れが生じていると自己評価した。	

2 版

8．今後の研究の推進方策

次年度は本年度になし得なかったDAP12遺伝子欠損条件下における改良型SSDKAの発現が骨組織に及ぼす影響を検討する。本実験には本年度に引き続き、DAP12遺伝子ヘテロ欠損 (+/-, Tg) オスマウスとDAP12遺伝子ヘテロ欠損 (+/-) メスマウスを交配し、DAP12遺伝子欠損 (-/-) メスマウスと、破骨細胞特異的に改良型SSDKAを発現するDAP12遺伝子欠損 (-/-, Tg) メスマウスから頸骨および血清を採取し、1) μ CTを用いた骨の組織学的解析および血清を用いた骨代謝マーカーの生化学的解析、および2) 外部機関への委託による骨形態計測を行う。必要な遺伝子型の産仔を効率よく得るために、破骨細胞特異的に改良型SSDKAを発現するDAP12遺伝子欠損 (-/-, Tg) オスマウスとDAP12遺伝子ヘテロ欠損 (+/-) メスマウスを交配することも視野に入れる。Siglec-15とDAP12は同一経路で働くのかについて明らかにする。野生型マウス、Siglec-15 KOマウス、DAP12 KOマウス、および両遺伝子欠損 (DKO) マウスを交配により作成する。 μ CTを用いた骨の組織学的解析および生化学的マーカーを用いた骨代謝の評価を行う。各単独遺伝子KOマウスとDKOマウスが同程度の大理石骨病を示す場合、Siglec-15とDAP12は同一経路で働く遺伝学的な傍証となる。

9．次年度使用が生じた理由と使用計画

理由) 新型コロナウイルスの流行により動物の交配計画を停止せざるを得ない状況になったため、当初予定していたDAP12遺伝子欠損条件下における改良型SSDKAの発現が骨組織に及ぼす影響を骨形態計測により測定する実験を遂行することができなかった。このためマウス飼育費用が当初予定していた額よりも低く抑えられたこと、また骨形態計測の外注を実行し得なかったことにより次年度使用が発生した。
(計画) 上記実験計画を遂行する上でのマウスの維持にかかる経費に使用する。また各種遺伝子型マウスの骨を形態学的に調べるため骨形態計測を外注する際に使用する。

10．研究発表(令和2年度の研究成果)

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

11．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件(うち出願0件/うち取得0件)

12．科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

13．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

14．備考

-