慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	骨形成プログラムの起動と終了の分子機構解明
Sub Title	Molecular Analysis of Initiation and Termination in Bone Formation
Author	松尾, 光一(MATSUO, KOICHI) 山口, 徹(YAMAGUCHI, TORU) 高田, 康成(TAKADA, YASUNARI) 戸山, 芳昭(TOYAMA, YOSHIAKI)
Publisher	
Publication year	2009
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2008.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では、発生過程と骨折治癒過程における内軟骨性骨化の起動メカニズムを解明した。発生過程の軟骨形成は正常で、骨折時の炎症性メディエーターの産生が低下しているトランスジェニックマウスを解析したところ、骨折線の融合不全を起こしていた。徐放性のPGE2ペレットを骨折線近傍に投与したところ、軟骨形成が回復し、骨折融合が促進された。すなわち、骨形成プログラムの起動メカニズムが発生過程と修復過程とで異なることが明らかになった。
Notes	研究種目：基盤研究(B) 研究期間：2007～2008 課題番号：19390399 研究分野：医歯薬学 科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_19390399seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2007～2008
課題番号：１９３９０３９９
研究課題名（和文）　骨形成プログラムの起動と終了の分子機構解明

研究課題名（英文）　Molecular Analysis of Initiation and Termination in Bone Formation

研究代表者
松尾　光一　(MATSUO KOICHI)
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：40229422

研究成果の概要：
本研究では、発生過程と骨折治癒過程における内軟骨性骨化の起動メカニズムを解明した。発生過程の軟骨形成は正常で、骨折時の炎症性メディエーターの産生が低下しているトランスジェニックマウスを解析したところ、骨折線の融合不全を起こしていた。徐放性の PGE2 ペレットを骨折線近傍に投与したところ、軟骨形成が回復し、骨折融合が促進された。すなわち、骨形成プログラムの起動メカニズムが発生過程と修復過程とで異なることが明らかになった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２００７年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
２００８年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
年度			
年度			
年度			
総　計	14,500,000	4,350,000	18,850,000

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学
キーワード：骨・軟骨代謝，骨リモデリング

１．研究開始当初の背景

骨形成は、発生過程だけでなく、成長後の骨量維持過程や骨折後の骨修復の過程でも起こる現象である。まず大腿骨や脛骨などの長管骨が発生・成長する「骨モデリング」の過程では、増殖して肥大化した軟骨に血管が侵入し、骨芽細胞による骨形成のプログラムが起動される。次に成長過程に続き、いわゆる「骨リモデリング」の時期に移行すると、骨形成は破骨細胞によって作られた「骨吸収窩」をほぼ過不足なく埋め戻すように制御される。一方、骨折後の骨修復過程における骨形成プログラムの起動には、発生・成長の場合と起動と終了の分子機構が異なるものと予測された。

２．研究の目的

本研究では、以下に述べる骨形成プログラムの制御が破綻している骨硬化症マウスを解析することにより、発生過程や骨リモデリング、さらに骨折後の修復過程における「骨形成プログラムの起動と終了」の分子機構の異同を明らかにすることを目的とした。

３．研究の方法

骨リモデリングにおける骨形成が亢進しているFra-1 トランスジェニック（Tg）マウスにおいて、発生、骨リモデリング、ならびに骨折治癒の過程を解析し、骨形成プログラムの起動と終了に関わる分子機構を解析した。例えば、骨折修復に関しては、脛骨に横骨折を作製し、髄内釘を用いて固定した後、軟エックス線撮影装置（ソフテックス）や in vivo マイクロ CT（リガク）、組織学的切片の作製などにより治癒過程を経時的に解析した。その過程での、様々な遺伝子の発現を主として定量 RT-PCR によって解析した。産生が低下していた PGE2 に関しては、徐放性のペレットを用いて、骨折部位に投与して、骨折治癒過程に対する効果を検討した（図１）。

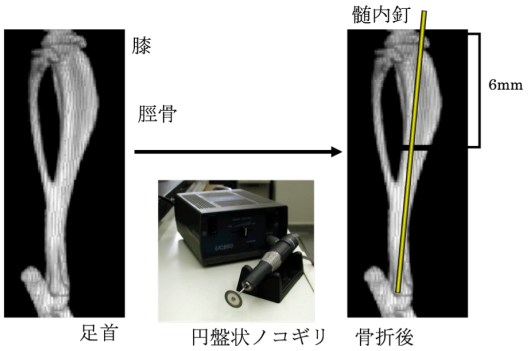

図１　脛骨の横骨折術

４．研究成果

まず、骨形成終了に関わるとされる既知の分子群(Sclerostin など)の骨折部位における発現を Fra-1 Tg と野生型対照マウスとで定量 RT-PCR 法を用い測定したところ、有意な差異を認めなかった。そこで、このマウスの過剰な骨形成を、骨折治癒過程で解析した。その結果、膜性骨化による仮骨形成は Fra-1 Tg マウスで野生型マウスよりも亢進していたにも関わらず、骨折部位の近位端と遠位端の融合が未分化の間葉系細胞（軟骨・骨前駆細胞）により妨げられていることが分かった(図２)。

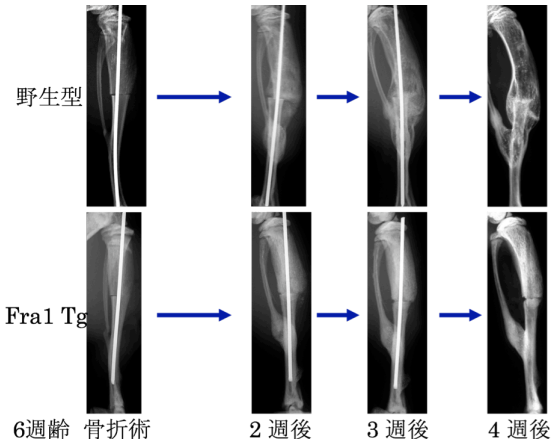

図２　軟エックス線による骨折治癒過程像

それは、仮骨形成初期におこるはずの軟骨形成が著しく低下しているためであった。その分子機構を調べたところ、炎症性サイトカインや COX-2 などの産生が低下しているためであると考えられた。そこで、PGE2 の徐放性のペレットを、脛骨横骨折の部位に、骨折作製と同時に埋め込んで、骨折治癒過程を解析した。その結果、軟骨形成の回復が認められ、骨折部位の融合が促進された。

以上のことから、骨折治癒過程における、内軟骨性骨化における骨形成プログラムの起動には炎症性メディエーターが必要であることが明らかになった（Yamaguchi T, Takada Y et al, 論文改訂中）.

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計　６件）

① Matsuo, K. Cross-talk among bone cells. ***Curr Opin Nephrol Hypertens,*** 10.1097/MNH.0b013e32832b75f1, 2009. *in press* 査読なし

② Irie N, Takada Y, Watanabe Y, Matsuzaki Y, Naruse C, Asano M, Iwakura Y, Suda T, Matsuo K.: Bidirectional signaling through ephrinA2-EphA2 enhances osteoclastogenesis and suppresses osteoblastogenesis. ***J. Biol. Chem.*** Published on line on March 19, 2009. 査読有り

③ Kanzaki S, Takada Y, Ogawa K, Matsuo K.: Bisphosphonate therapy ameliorates hearing loss in mice lacking osteoprotegerin. ***J. Bone Miner. Res.*** 24: 43-49, 2009. 査読有り

④ Selvarajoo K, Takada Y, Gohda J, Helmy M, Akira S, Tomita M, Tsuchiya M, Inoue J, Matsuo K.: Signaling flux redistribution at Toll-like receptor pathway junctions. ***PLoS ONE*** 3: e3430, 2008. 査読有り

⑤ Hikosaka Y, Nitta T, Ohigashi I, Yano K, Ishimaru N, Hayashi Y, Matsumoto M, Matsuo K, Penninger JM, Takayanagi H, Yokota Y, Yamada H, Yoshikai Y, Inoue J, Akiyama T, Takahama Y.: RANKL produced by positively selected thymocytes fosters medullary thymic epithelial cells that express autoimmune regulator. ***Immunity*** 29: 438-450, 2008. 査読有り

⑥ Kuroda Y, Hisatsune C, Inoue T, Nakamura T, Matsuo K, Mikoshiba K.: Osteoblasts induce Ca^{2+} oscillation-independent NFATc1 activation during osteoclastogenesis. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA*** 105: 8643-8648, 2008. 査読有り

〔学会発表〕（計　16 件）

1. Arthur, A., Stylianou, C., Koblar, S. A., Matsuo, K., Gronthos, S. EphB/ephrin-B interactions assist in MSC niche maintenance and contribute to bone remodelling following injury. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone & Mineral Society, March 21-25, 2009, Sydney, Austria.

2. Takada, Y., Irie, N., Grech, L., Nakamura, T., Kato, S., Wagner, E. F., Matsuo, K. Late expression of c-Fos during osteoclast differentiation determines osteoclast survival and bone mass. 2nd Joint Meeting of the International Bone & Mineral Society and the Australian and New Zealand Bone & Mineral Society, March 21-25, 2009, Sydney, Austria.

3. Matsuo, K. （招待講演）Regulation of osteoblasts by osteoclasts. Forefront on Advanced Bone and Joint Science, December 2-5, 2008, Tokyo, Japan.

4. Matsuo, K. （招待講演）Bi-directional signaling between osteoblast and osteoclast, Ephrins, as un-coupling mechanism. Korean Society of Osteoporosis Annual Meeting, Continuing Medical Education, and International Symposium, November 16, 2008, Korea.

5. Matsuo, K. （招待講演）Ephrins in osteoclast-osteoblast communication . 30th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, September 12-16, 2008, Montreal, Canada.

6. Matsuo, K. （招待講演）Osteoclast-osteoblast interaction. Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Hôpital Notre-Dame (host, Dr. Johanne Martel-Pelletier), September 12, 2008, Montreal, Canada.

7. Kanzaki, S., Takada, Y., Ogawa, K., Matsuo, K. Bisphosphonate therapy ameliorates bone resorption and hearing loss in mice lacking osteoprotegerin. 8th International Conference on Cholesteatoma & Ear Surgery, June 15-50, 2008, Antalya, Turkey.

8. Matsuo, K. （招待講演）Fra1 and "danger signals" in lung injury and bone fracture. 2nd International Conference on Osteoimmunology, June 8-13, 2008, Rhodos,

Greece.

9. Matsuo, K. （招待講演） Osteoclast-osteoblast bidirectional signaling. 35th European Symposium on Calcified Tissues, May 24-28, 2008, Barcelona, Spain.

10. Matsuo, K. （招待講演）Ephrin signaling in osteoclast-osteoblast cross-talk. IBMS Davos Workshops: Bone Biology & Therapeutics, March 9-14, 2008, Davos, Switzerland.

11. Matsuo, K. （招待講演） Ephrins in osteoclast-osteoblast communication. Molecular Signalling in Bone Remodelling: Therapeutic Opportunities, November 24-25, 2007, Sydney, Australia.

12. Matsuo, K. （招待講演） Regulation of bone remodeling through ephrine-Eph interactions. Seminar at St. Vincent's Institute, November 22, 2007, Melbourne, Australia.

13. Matsuo, K. （招待講演）Ephrin function in bone cell interaction. "Stem Cell Regulation and Biosciences" The International Symposium/Workshop on Advanced Bone and Joint Science (ABJS), October 28-31, 2007 Tokyo.

14. Kukita, A., Shobuike, T., Asagiri, M., Takayanagi, H., Pessler, F., Matsuo, K., Kukita, T. The POZ-Zn Transcriptional Regulator OCZF/LRF Is Induced by RANKL and Increases c-Fos Expression in Osteoclastogenesis. 29th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, September 16 - 19, 2007 Hawaii, USA.

15. Matsuo, K. （招待講演）Bidirectional signalling between osteoclasts and osteoblasts as an explanation for coupling: the role of ephrin-Eph. 17th Meeting of the International Bone and Mineral Society (IBMS), June 24-29, 2007, Montréal, Canada.

16. Matsuo, K. （招待講演）Regulation of bone remodeling through cell-cell interaction. Korean Endocrine Society Meeting, May 3-4, 2007, Soul, Korea.

〔図書〕（計　9 件）

1. 松尾光一、入江奈緒子（2009）目で見る Bone Biology: 骨芽細胞と破骨細胞のクロストーク：エフリンとエフ. 骨粗鬆症治療 8(3)（印刷中）.
2. 松尾光一（2009）骨芽細胞と破骨細胞の細胞間クロストーク. 実験医学 27(6), 860-864.
3. 山口朗、松尾光一、今村健志、田中栄、福本誠二（2008）骨生物学の新機軸―Osteonetwork と Osteocrine System― 最新医学 63(11), 2155-2163.
4. 松尾光一（2008）破骨細胞・骨芽細胞における細胞間相互作用の分子メカニズム. 内分泌・糖尿病科 27 (3), 253-257.
5. 佐野元市郎、 松尾光一 （2008）骨リモデリングと骨質. *Clin. Calcium* 18 (3), 315-320.
6. 松尾光一（2008）AP-1 による骨免疫制御. 腎と骨代謝 21 (1), 21-27.
7. 松尾光一、高田康成 （2007）AP-1 の骨と免疫系における機能. 骨・関節・靭帯, 20(8) 765-770.
8. 松尾光一 （2007）骨免疫学は偶然か必然か. 骨・関節・靭帯, 20(8), 715-716.
9. 松尾光一 （2007）エフリンとエフによる骨代謝調節. *THE BONE* 21(6), 743-746.

６．研究組織

(1)研究代表者

松尾　光一（MATSUO KOICHI）

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号： 40229422

(2)研究分担者

山口　徹（YAMAGUCHI TORU）

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：50338092

高田　康成（TAKADA YASUNARI）
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号： 40407086

戸山　芳昭（TOYAMA YOSHIAKI）
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号： 40129549

(3)連携研究者