

平成 21 年 4 月 2 日現在

研究種目：基盤研究（S）
研究期間：2006～2010
課題番号：18109011
研究課題名（和文）骨形成メカニズムとしてのニッチの分子的解明と治療への応用基盤の先端ナノサイエンス
研究課題名（英文）Molecular Analyses of Osteoblastic Niche and its Application with the Development of Nano Science
研究代表者
野田 政樹（NODA MASAKI）
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：50231725

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・軟骨代謝学

1. 研究計画の概要

骨形成に必須と考えられる骨格系幹細胞の微小環境、ニッチについては、尚不明の点が多い。さらにこの幹細胞が分化して可能となる骨の形成に関わる骨芽細胞の制御においてはそのネットワークの解明は十分でなく、特に成熟骨芽細胞規定の因子に対する研究の進展が必要である。また全身性の骨の制御機構の中でこれまで示されてきたホルモンやサイトカインの制御に加え骨吸収と骨形成の双方を制御する神経系の支配の存在が申請者の研究により示唆されているが、神経系による破骨細胞制御の骨への関与の機構はなお不明の点が多い。さらに、骨関節の再生医学的再構築を目指す治療の観点からは、細胞とともに骨形成促進因子などを有効かつ医療経済学的観点からも適切に投与することを可能とする新たなデリバリーシステムの組織再生医学的開発が必要となっている。本研究ではこれらの点を検索する。

2. 研究の進捗状況

成熟骨芽細胞の制御に関わる因子としては、Anti proliferative gene に属する新たな細胞内制御因子 ANA (Abundant in Neuroepithelium Area) の BMP の阻害因子としての役割を見出し、特に下流のシグナル因子の中で Smad1 ならびに Smad5 とは結合せず、特異的に Smad8 とのみ結合して成体における異所性骨形成を阻害することを明らかにした。この Smad8 と結合する BMP シグナルの阻害は、BMP レスポンスエレメントに結合することによって起こるルシフェラーゼアッセイを用いた転写レベルの制御に関する解析から ANA が BMP の働きを成熟骨芽細胞において転写レベルにおいて抑制することを明らかにした。この検討は

siRNA ならびに強制発現で行われると共に、ノックアウトマウスにおける異所性骨化のモデルによる検証から異所性骨形成の抑止する過程を発見し、細胞制御レベルのシグナル、成体内における骨形成に至るまでの特異的な経路の存在が見出された。

骨吸収の制御に関する検討からは、交感神経系の活性化によって生ずることをこれまでに明らかにした廃用性骨萎縮モデルから発展し、この非荷重状態による副甲状腺ホルモン受容体の構成的活性化型の変異を持つ成体の動物において、骨吸収系シグナルに向かう非荷重シグナルが逆転し、通常は骨吸収を促進する方向が骨吸収の非荷重による抑制に至ることを見出し、そのシグナルの解析からこの逆転が MCP1 ならびに M-CSF のサイトカイン発現の制御に基づくことを明らかにし、これらのサイトカインの逆転的な制御に基づく破骨細胞の新しい制御のメカニズムに PTH シグナルが関与することを見出した。

一方、血管系の制御も交感神経の支配のもとにあり、この点から骨の代謝と循環系の制御の接点の検討を行った。レニン・アンジオテンシンシステムは、血圧の上昇作用の上で主要な経路の一端を成しており、循環系の血流量によってその制御がなされる。一方、同じレニン・アンジオテンシンシステムは、骨芽細胞においても発現しており、また破骨細胞における蛋白レベルでの発現も確認された。このことから、レニン・アンジオテンシンシステムの成体における意義の検討を行った。組織学的な検索により、9 週齢のマウスの成長板においてアンジオテンシンの受容体である AT-2 並びに AT-1 が、破骨細胞並びに骨芽細胞において発現していることを見出した。骨芽細胞の初代培養を用いた遺伝子発現の検討の結果、頭蓋冠由来の骨

芽細胞並びに骨髄由来の細胞いずれもがアンジオテンシンの受容体(AT-1, AT-2)を発現すると共に、アンジオテンシン変換酵素を発現していること、また骨芽細胞の14日間までの培養による分化の進展と共に、アンジオテンシンの受容体の発現が増加することを見出した。AT-2の阻害薬を用いることにより、成体のマウスの骨量は増加し、骨梁の数は増加すること、また海綿骨の間隙は減少することから、アンジオテンシンの受容体(AT-2)に関わるシグナルが、骨の量に対し抑制的な働きを持つことが明らかになった。これに加えてアンジオテンシンIIのノックアウトマウスの骨量を検討した結果、骨量の増加或いは骨幅の上昇や骨梁の増加がいずれも認められ、骨のレベルを生理的にAT-2が制御することが実証された。

更に骨の再構築に関わる研究の結果、BMPの単回投与によって通常では修復が不可能なレベルの大型骨欠損に対し、新しい担体であるコレステロールプルランを用いたナノサイエンス材料が骨の修復に際しBMPを有効に徐放すること、また頭頂骨の如く扁平な骨の形成を大きな変形を伴うことなく、かつ神経に対する圧迫障害などを生ずることなく促進し、形を再構築することを見出している。以上の研究の進展は、本基盤研究で提案した「骨形成メカニズムとしてのニッチの分子的解明と治療への応用基盤の先端ナノサイエンス」の研究を順調に進展させているものである。

3. 現在までの達成度

<区分>

当初の計画以上に進展している。

おおむね順調に進展している。

やや遅れている。

遅れている。

理由

研究申請において提案した成熟骨芽細胞の制御機能の解明並びに神経系の制御に基づく廃用性の骨萎縮に対する破骨細胞機能の制御のメカニズムの解明、更にナノサイエンスを用いた骨再構築研究のいずれにおいても、中間評価までの研究期間において成果が挙げられたことから、当初の計画通り順調に進展していると判断する。

4. 今後の研究の推進方策

成熟骨芽細胞の機能制御の研究においては、BMPの成体内における骨形成促進機能の修飾メカニズムを明らかにし、これによって閉経後骨粗鬆症における骨量減少に対して、骨形成促進シグナルの持つ成体における骨量維持によってその減少を阻止する可能性を追求し、治療に向けた新たな分子基盤の構築を図る。また、骨吸収の主たる要因である破骨細胞の機能亢進のメカニズムの解明においては、交感神経系のシグナルの亢進に基づく破骨細胞の活性化をリンクさせる分子基盤を解明し、これによって骨の形成と吸収のカップリングを超えた過剰な吸収への傾きへの進展メカニズムを解明する。

更にナノサイエンスに基づく骨再構築の検討においては、現在自然治癒が困難な大型骨欠損に対し、骨再構築に向けたナノサイエンスに立脚する骨再構築の基盤研究を進展させる。これらの研究の推進により、骨形成に向けた新たな視点を確立するとともに、骨再構築を可能とする骨形成に基づく治療の基盤を確立する。

5. 代表的な研究成果

(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 37 件)

Miyai K, Yoneda M, Hasegawa U, Toida S, Izu Y, Hemmi H, Hayata T, Ezura Y, Mizutani S, Miyazono K, Akiyoshi K, Yamamoto T, Noda M. ANA deficiency enhances BMP-induced ectopic bone formation via transcriptional events. Journal of Biological Chemistry; 2009 in press 査読有

Izu Y, Mizoguchi F, Kawamata A, Hayata T, Nakamoto T, Nakashima K, Inagami T, Ezura Y, Noda M. Angiotensin II type 2 receptor blockade increases bone mass. Journal of Biological Chemistry 284:4857-64; 2009 査読有

Ono N, Nakashima K, Rittling SR, Schipani E, Hayata T, Ezura Y, Soma K, Denhardt DT, Kronenberg HM, Noda M. Osteopontin Negatively Regulates parathyroid hormone receptor signaling in osteoblasts Journal of Biological Chemistry 283:19400-19409, 2008 査読有

Ono N, Nakashima K, Schipani E, Hayata T, Ezura Y, Soma K, Kronenberg HM, Noda M. Constitutively active parathyroid hormone receptor signaling in cells in osteoblastic lineage suppresses mechanical unloading-induced bone resorption. Journal of Biological Chemistry 282:25509-16, 2007 査読有

Saita Y, Takagi T, Kitahara K, Usui M, Ezura Y, Nakashima K, Kurosawa H, Ishii S, Noda M. Lack of schnurri-2 expression associates with reduced bone remodeling and osteopenia. Journal of Biological Chemistry 282:12907-15, 2007 査読有

[学会発表](計 61 件)

[産業財産権]

出願状況(計 1 件)

名称: 骨形成促進物質とナノゲルを含有する骨形成用生体材料

国際出願番号: PCT/JP2007/50555

代表者: 秋吉一成、野田政樹

取得状況(計 1 件)

名称: 抗オステオポンチン抗体及びその用途 / ANTI-OSTEOPONTIN AND USE THEREOF

国際出願番号: PCT/JP02/0338