

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26253085

研究課題名(和文)骨形成の統合的メカニカルシグナル制御ネットワークの新分子機構

研究課題名(英文)Molecular Mechanism of Comprehensive Signal for Bone Formation

研究代表者

野田 政樹(NODA, Masaki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：50231725

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,100,000円

研究成果の概要(和文)：運動器疾患は社会の超高齢化と共に急増しており、特に骨粗鬆症の患者は約1,000万人と推定される。特に重度の骨粗鬆症に対する広範囲骨欠損の治療の上で「骨の形成を基盤とする対処法」の確立は急務であるが、力学的刺激の減少による骨量低下を含む「骨形成低下の疾患病態における調節破綻に至る骨形成制御の分子機構」は尚十分には明らかでない。本研究により骨芽細胞の運動により骨量が制御される分子メカニズムとしてNckの役割が解明(PNAS 2015)され内軟骨性骨化のDullardによるTGFβシグナルの制御(JBMR2015)が明らかとなり破骨細胞ではTPCが骨量の制御に関わる(JBC2017)を示した。

研究成果の概要(英文)：Musculoskeletal diseases are rapidly increasing with the aging of society, and therefore, establishment of "coping method based on bone formation" is urgent, but "molecular mechanism of osteogenic control leading to regulation failure in diseased pathology of decreased osteogenesis" including reduction of bone mass due to decrease in mechanical stimulus is still not clear enough. We discovered the role of Nck as a molecular mechanism by which bone mass is regulated by the movement of osteoblasts is elucidated (PNAS 2015), control of TGFβ signal by Dullard during endochondral bone formation (JBMR 2015), and function of osteoclastic TPC (JBC 2017). In addition, regulation of adrenergic receptors by PTH, isoproterenol regulation of osteoblastic ALP, osteoblast proliferation promoting action through UPS by PTH and molecular mechanism of oxidative stress control of osteoblasts were established. These discoveries contribute to understand the molecular mechanism of bone formation.

研究分野：分子薬理学

キーワード：骨芽細胞 破骨細胞 骨形成 メカニカルストレス

1. 研究開始当初の背景

運動器疾患は社会の超高齢化と共に急増しており、特に骨粗鬆症の患者は約 1,000 万人と推定される。これらの患者に加え循環器疾患、神経疾患、悪性腫瘍による“寝たきり”の患者は 30 万人を超え、廃用性骨萎縮を生ずることにより骨粗鬆症は、骨吸収亢進に加え骨形成の抑制を伴い、更に重症化する。骨粗鬆症による大腿骨近位部骨折は生命予後を不良とする重要な病態である。この様な、大腿骨近位部骨折並びにこれを起こす骨量や骨形成の低下が関与する疾患の増加は著しい。従って特に重度の骨粗鬆症に対する「骨量増加」および重度の関節リウマチ並びに変形性関節症等の「関節再建」、ロコモティブシンドロームや増加するがんの骨転移、外傷性の広範囲骨欠損の治療の上で「骨の形成を基盤とする対処法」の確立は急務である。

2. 研究の目的

上述の状況を踏まえるが、力学的刺激の減少による骨量低下を含む「骨形成低下の疾患病態における調節破綻に至る骨形成制御の分子機構」は尚十分には明らかでない。そこでこの点を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

骨形成のシグナル分子について 細胞レベル、個体レベルにおいて その機能を解析する。特に 本研究では 新しい視点としてメカニカルストレスでこれまで不明の点の多かった 細胞の運動、接着に関わる細胞骨格の分子ならびに骨形成因子の制御修飾、破骨細胞の膜分子、GPCR と骨量制御に関わる分子に着目して解析した。

4. 研究成果

本研究により骨芽細胞の運動により骨量が制御される分子メカニズムとして Nck の役割が解明 (PNAS 2015) され内軟骨性骨化の Dllard による TGFβシグナルの制御 (JBMR2015) が明らかとなり破骨細胞では TPC が骨量の制御に関わる (JBC2017) を示した。加えて GPCR を受容体とする骨形成分子の PTH のアドレナリン受容体の制御、ベータアゴニストによる骨芽細胞の ALP ならびに運動制御、膜電位による破骨細胞制御、細胞骨格分子発現の BMP による制御、Lgr4 の骨形成因子による制御、細胞の核と膜をシャトリングする分子による関節炎のコントロール、PTH の UPS を介する骨芽細胞増殖促進作用、VI 型 XII 型のコラーゲンによる骨形成、IL1 による骨芽細胞の石灰化制御、BBS3 による骨

形態の調節、廊下に関わる酸化の骨芽細胞制御の分子機構、FGF による骨芽細胞の POLDIP2 の発現調節、骨細胞の動きと形態制御の細胞骨格による制御により分子のネットワークを解明した。

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 14 件) (すべて査読有り)

- ① Moriya S, Hayata T, Notomi T, Smriti AA, Nakamaoto T, Izu Y, Kawasaki M, Yamada T, Shirakawa J, Kaneko K, Ezura Y, Noda M. PTH regulates β 2-adrenergic receptor expression in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. Journal of Cellular Biochemistry; 116:142-148, 2015
- ② Yamada T, Ezura Y, Hayata T, Moriya S, Shirakawa J, Notomi T, Smriti A, Kawasaki M, Izu Y, Harada K, Noda M. β 2Adrenergic receptor activation suppresses BMP-induced alkaline phosphatase expression in osteoblast-like MC3T3E1 cells. Journal of Cellular Biochemistry; 116(6): 1144-52, 2015
- ③ Hayata T, Ezura Y, Asashima M, Nishinakamura R, Noda M. Dllard/Ctdnep1 Regulates Endochondral Ossification via Suppression of TGF- β s Signaling. Journal of Bone and Mineral Research; 30(5): 947, 2015
- ④ Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ohura K, Noda M, Skerry T M. Zinc-induced effects on osteoclastogenesis involves activation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide modulated channels via

- changes in membrane potential. *J Bone Miner Res* 30(9):1618-26, 2015
- ⑤ Kawasaki M, Ezura Y, Hayata T, Notomi T, Izu Y, Noda M. TGF-beta suppresses Ift88 expression in chondrocytic ATDC5 cells. *J Cell Physiol*; 230:2788-95, 2015
- ⑥ Notomi T, Kuno M, Hiyama A, Ezura Y, Honma M, Ishizuka T, Ohura K, Yawo H, Noda M. Membrane depolarization regulates intracellular RANKL transport in non-excitabile osteoblasts. *Bone*; 81: 306-314, 2015
- ⑦ Lin W, Ezura Y, Izu Y, Smriti A, Kawasaki M, Pawaputanon C, Moriyama K, Noda M. Profilin expression is regulated by bone morphogenetic protein (BMP) in osteoblastic cells. *J Cell Biochem*, 117(3):621-8 2016
- ⑧ Nakamoto T, Izu Y, Kawasaki M, Notomi T, Hayata T, Noda M, Ezura Y. Mice deficient in CIZ/NMP4 develop an attenuated form of K/BxN-serum induced arthritis. *J Cell Biochem*. 117(4):970-7, 2016
- ⑨ Aryal A C S, Miyai K, Izu Y, Hayata T, Notomi T, Noda M, Ezura Y. Nck influences preosteoblastic/osteoblastic migration and bone mass. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Dec 15;112(50):15432-15437, 2015
- ⑩ Shirakawa J, Harada H, Noda M, Ezura Y. PTH-Induced osteoblast proliferation requires upregulation of the ubiquitin-specific peptidase 2 (Usp2) expression. *Calcif Tissue Int*. 98(3):306-15, 2016
- ⑪ Ezura Y, Lin X, Hatta A, Izu Y, Noda M. Interleukin-1 β suppresses the transporter genes Ank and Ent1 expression in stromal progenitor cells retaining mineralization. *Calcif Tissue Int*. 99(2):199-208, 2016
- ⑫ Suzuki K, Hayano y, Nakai A, Furuta F, Noda M. Adnergic Control of the adaptive immune response by diurnal lymphocyte recirculation through lymph nodes. *Journal of Experimental Medicine* 213(12):2567-2574, 2016
- ⑬ Jean-Alphonse FG, Wehbi VL, Noda M, Xiao K , Vilardaga JP. β_2 -adrenergic receptor control of endosomal PTH receptor signaling via G $\beta\gamma$. *Nature Chemical Biology* 213(3):259-261, 2017
- ⑭ Kajikawa S, Taguchi Y, Hayata T, Ezura Y, Ueta R, Arimura S, Inoue JI, Noda M, Yamanashi Y. Dok-3 and Dok-1/-2 adaptors play distinctive roles in cell fusion and proliferation during osteoclastogenesis and cooperatively protect mice from osteopenia. *Biochem Biophys Res Commun*. 498(4):967-974. 2018
- [学会発表] (計 35件)
- ① Pawaputanon Na Mahasarakham Chantida, Yoichi Ezura, Makiri Kawasaki, Shuichi Moriya, Takayuki Yamada, Yayoi Izu, Katsuhiko Nishimori, Yuichi Izumi, Masaki Noda. The expression of LGR4 receptor is induced by BMP2 in osteoblast-like cell MC3T3-E1. The Japanese Society for Bone and Mineral Research, Tokyo Japan, July 23-25, 2015
- ② Takuya Notomi, Miyuki Kuno, Akiko Hiyama, Kiyoshi Ohura, Masaki Noda,

- Timothy M. Skerry. Zinc-induced effects on osteoclastogenesis involves activation of HCN channels via change in membrane potential. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ③ Yoichi Ezura, Arina Hatta, Shin Lin, Yayoi Izu, Tadayoshi Hayata, Masaki Noda. Interleukin-1 β suppresses expression of osteoblastic genes as well as the regulators of ecto-nucleotides and pyrophosphate that negatively regulate bio-mineralization in mouse bone marrow stromal cells. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ④ Yayoi Izu, Yoichi Ezura, Manuel Koch, David E. Birk, Masaki Noda. Collagens VI and XII matrix bridges mediate osteoblast cell communicating networks during bone formation. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ⑤ Smriti Aryal A.C, Yoichi Ezura, Yayoi Izu, Masaki Noda. Actin cytoskeleton regulators Nck1 and Nck2 are required for supporting the osteoblastic migration, bone formation and bone mass under the control of IGF-1 and for suppressing osteoclastic bone loss. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ⑥ Makiri Kawasaki, Tadayoshi Hayata, Yayoi Izu, Yoichi Ezura, Masaki Noda. Bardet-Biedl syndrome 3 is involved in the development of cranial base. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ⑦ Shuichi Moriya, Yoichi Ezura, Yayoi Izu, Masaki Noda. Cathepsin K deficiency suppresses disuse-induced bone loss. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Seattle, Washington, U.S.A., Oct 9-12, 2015
- ⑧ Tadayoshi Hayata, Yoichi Ezura, Makoto Asashima, Ryuichi Nishinakamura, Masaki Noda. Dullard regulates endochondral ossification via suppression of TGF- β signaling. The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Cartilage Metabolism, Hiroshima, Japan, Feb 19-20, 2016
- ⑨ Takuya Notomi, Miyuki Kuno, Akiko Hiyama, Yoichi Ezura, Kiyoshi Ohura, Masaki Noda. Changes in Membrane Potential Regulates RANKL Intracellular Transport via Voltage-gated Calcium Channels in Osteoblasts. The 38th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Atlanta, Georgia, U.S.A., Sept 15-19, 2016
- ⑩ Sakie Katsumura, Yoichi Ezura, Kathy Griendling, Masaki Noda. Dexamethasone-induced Poldip2 expression possibly recapitulating the osteoblast aging was suppressed by a longevity factor basic-FGF. The 38th Annual Meeting of the American

- Society for Bone and Mineral Research, Atlanta, Georgia, U.S.A., Sept 15-19, 2016
- ⑪ Chantida Pawaputanon Na Mahasarakham, Yoichi Ezura, Yayoi Izu, Katsuhiko Nishimori, Yuichi Izumi, Masaki Noda. Oxidative stress impairs the expression levels of of *Lgr4* in osteoblastic cells. The 38th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Atlanta, Georgia, U.S.A., Sept 15-19, 2016
- ⑫ Jumpei Shirakawa, Yoichi Ezura, Tadayoshi Hayata, Yayoi Izu, Ralph Botcher, Reinhard Fässler, Masaki Noda. Profilin1 Deficiency in Osteoclasts Causes Osteolytic Erlenmeyer-Flask Deformity of the Femurs Due to the Increased Migratory Potential. The 38th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Atlanta, Georgia, U.S.A., Sept 15-19, 2016
- ⑬ Sakie Katsumura, Masaki Noda. Regulation of bone cell function. World Congress on Osteoporosis- International Osteoporosis Foundation, European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases. Florence, Italy. March 23-26, 2017
- ⑭ Chantida Pawaputanon Na Mahasarakham, Yoichi Ezura, Yayoi Izu, Katsuhiko Nishimori, Yuichi Izumi, Masaki Noda. Hydrogen peroxide suppresses *Lgr4* expression in osteoblasts. International Association for Dental Research (IADR), San Francisco, March 22-25, 2017
- ⑮ Takuya Notomi, Miyuki Kuno, Akiko Hiyama, Yoichi Ezura, Kiyoshi Ohura, Masaki Noda.
- ⑯ Role of the lysosomal channel, Two Pore Channel 2, in osteoclast differentiation and bone remodeling under normal and low-magnesium conditions. The 39th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Denver, Colorado, Sept 8-11, 2017
- ⑰ Chantida Pawaputanon na Mahasarakham, Yoichi Ezura, Masaki Noda. Alpha-lipoic Acid (ALA) Pre-treatment Specifically Prevents the Suppression of *Lgr4* expression by TGF-beta. The 39th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Denver, Colorado, Sept 8-11, 2017
- ⑱ Takuya Notomi, Akiko Hiyama, Tadashige Nozaki, Masaki Noda. Stretch-stimulus activates the mechano-signaling via activation of the mechano-sensitive channel, Piezo1 and the subsequent calcium influx in osteocyte-like cells. The 40th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, Montreal, Canada, Sept 28-Oct1, 2018

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野田 政樹 (NODA, Masaki)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：50231725

(2) 研究分担者

江面陽一 (EZURA, Yoichi)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・准教授

研究者番号： 50333456

早田匡芳 (HAYATA, Tadayoshi)
筑波大学・大学院生命科学研究科・講師
研究者番号：40420252