

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20960

研究課題名（和文）骨折修復における老化骨芽細胞機能の解明

研究課題名（英文）Insights into the function of senescent osteoblast in fracture repairing.

研究代表者

右近 裕一郎（Ukon, Yuichiro）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：50964334

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：加齢に伴う骨粗鬆症は、骨芽細胞Men1の消失によって特徴づけられた。Men1を骨芽細胞特異的に誘導KOすると、加齢性骨粗鬆症患者の表現型と一致した。組織形態学的に、Men1KOマウスの大腿骨は、加齢性骨粗鬆症の特徴である骨芽細胞活性が低下し、破骨細胞活性が上昇した。Men1の欠損は、mTORC1の活性化とAMPKの抑制を介して細胞の老化を誘導し、メトホルミン治療により回復した。異所性形成骨モデルにおいて、Men1の欠損は老化細胞の蓄積と骨粗鬆症性骨形成を引き起こし、これらはメトホルミンにより改善された。骨折修復阻害モデルでは、偽関節治療における老化細胞除去の有効性が示唆される結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨粗鬆症は加齢によって生じ、骨における老化と認識されてきた。しかし、実際は複合的な全身性の多因子が交絡し、臨床における骨粗鬆症は必ずしも老化の関与だけではない。このように、骨の老化は知られているが、老化細胞の蓄積による骨への影響は明らかではない。老化細胞は、個体老化だけでなく組織修復にも関与しており、詳細に骨芽細胞の細胞老化の機能や機序が明らかになれば、個体老化に伴う老化細胞の増加に対する治療介入だけでなく、組織修復における老化細胞の調整など新たな創薬ターゲットが多数生まれると期待される。

研究成果の概要（英文）：Age-related osteoporosis was characterised by the loss of osteoblast Men1; osteoblast-specific induced KO of Men1 was consistent with the phenotype of patients with age-related osteoporosis. Histomorphologically, femurs from Men1KO mice showed reduced osteoblast activity and increased osteoclast activity, a feature of age-related osteoporosis; Men1 loss induced cellular senescence via activation of mTORC1 and suppression of AMPK, which was restored by metformin treatment. In an ectopic-forming bone model, Men1 deficiency caused senescent cell accumulation and osteoporotic bone formation, which were ameliorated by metformin. In an inhibited fracture repair model, the results suggest the effectiveness of senescent cell removal in pseudoarticular treatment.

研究分野：骨代謝

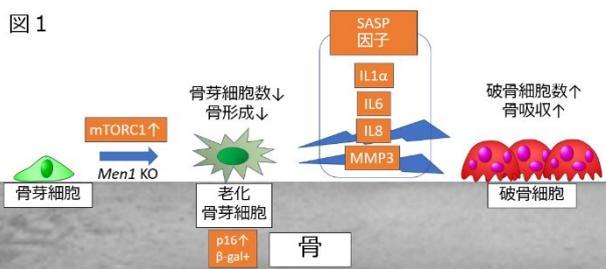
キーワード：骨代謝 骨粗鬆症 細胞老化 骨老化

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

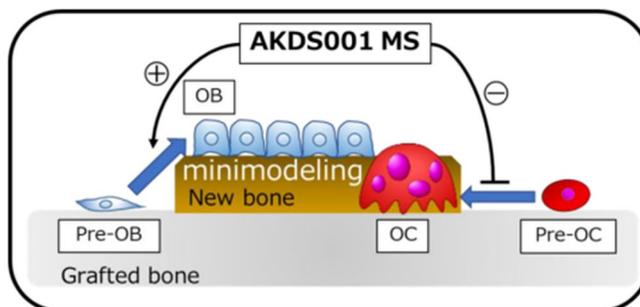
近年、老化細胞の蓄積により、生体の老化が起こることが明らかとなり、老化細胞に焦点をあてた研究が注目されている。申請者は、その1つとして骨芽細胞の老化に注目した骨の老化モデルを作成した。しかし、骨の老化がどのように、生体内で起こるかは明らかではない。また、骨折修復において、老化細胞が生じることが知られているが、骨形成を最も担っている骨芽細胞の老化が生体内でどのような役割を持つかは明らかではない。

申請者は、遺伝子改変マウスを用いて、骨芽細胞の細胞老化による骨の老化モデルを作成し、骨代謝における老化骨芽細胞の影響を明らかとした(図1:右近ら, 骨代謝学会, 2020)。また、骨リモデリングに着眼した骨代謝研究にも取り組んできた(図2:Ukon et al, Front. Bioeng. Biotechnol. 2022)。



MEN1欠損により引き起こされた
老化骨芽細胞による骨の老化メカニズム

図2



2. 研究の目的

本研究では、(1)作成した骨の老化モデルの解析によって、生体内で骨がどのように老化するか及び、(2)骨折モデルを作成することで、老化細胞の骨折修復における役割を明らかとする。

3. 研究の方法

(1) 生体内で骨がどのように老化するかを明らかとする。

四肢骨解析

(a) 老齢マウスにおける四肢骨評価、RT-PCR 評価

(b) 骨の老化モデルマウスの四肢骨評価、力学試験評価

(c) 骨の老化モデルマウスの免疫染色、骨形態計測

in vitroでの骨芽細胞の評価

(a) 遺伝子 KO による継代老化評価

(b) metformin を用いたウエスタンブロッティングによる老化シグナル評価

異所性形成骨解析

(a) 老齢マウスにおける異所性骨解析、免疫染色、RT-PCR 評価

(b) 骨の老化モデルマウスの異所性骨解析、免疫染色、RT-PCR 評価

(2) 老化細胞の骨折修復における役割を明らかとする。

骨折修復阻害モデルの確立

(a) 骨折修復阻害モデルにおける骨形成薬の作用評価

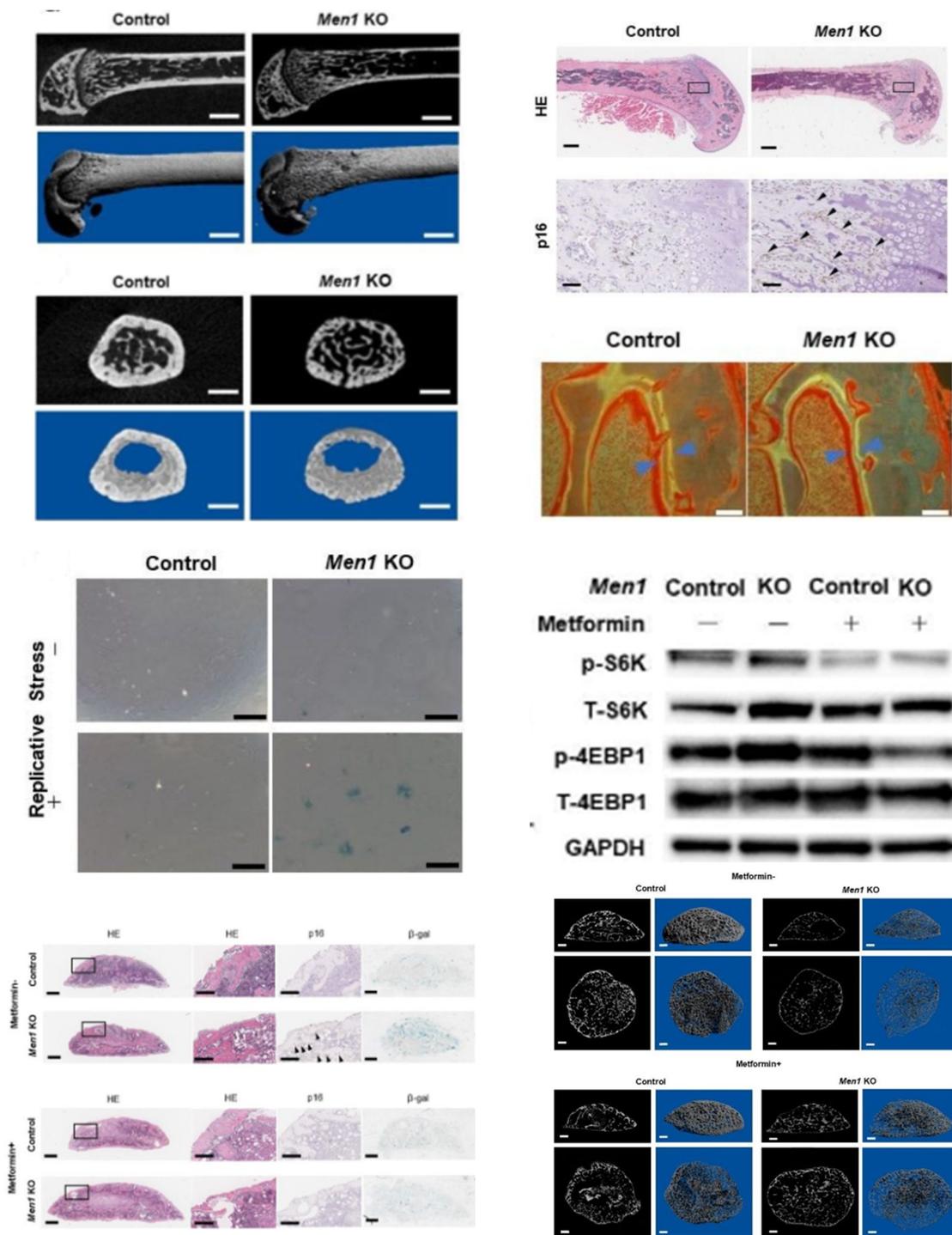
(b) 骨折修復阻害モデルにおける免疫染色、RT-PCR

骨折修復モデルにおける老化細胞除去の作用検証

(a) 経時評価、免疫染色

4. 研究成果

(1) 老齡マウスの四肢骨評価では、若齡マウスと比較して海綿骨の BV/TV、骨密度、骨梁の幅が減少し、皮質骨の多孔性が増加し、皮質骨の幅、骨密度が低下し、髓腔が拡大していることがわかった。また、PCR で *Men1* 遺伝子が老齡マウスで減少し、老化マーカーが増加していることがわかった。このことから *Men1* 遺伝子の KO マウスを作成したところ、若齡のマウスでも皮質骨の多孔性が増加し、皮質骨の幅、骨密度が低下し、髓腔が拡大することがわかった。さらに力学試験では KO により剛性が低下していることがわかった。免疫染色を行った所、KO で老化マーカーが増加していた。さらに骨形態計測では KO で骨形成速度が低下し、骨芽細胞が減少し、破骨細胞が増加している事がわかった。免疫染色では KO による RANKL/OPG 比の増加を認めた。次に *In vitro* で *Men1* KO 骨芽細胞を作成したところ、継代による老化が促進されていることがわかった。また、KO によって AMPK の活性が低下し、mTORC1 の活性が増加していることがわかった。これらはメトホルミンの投与によって元に戻った。次に、さらに老化を明確に確認するために BMP-2 蛋白質を用いた老化負荷による異所性形成骨の解析を行った。老齡マウスの異所性形成骨では BV/TV と骨梁幅の低下を認め、老化マーカーが増加することがわかった。また、*Men1* の低下と mTORC1 の亢進も認めた。*Men1* KO マウスの異所性形成骨では、老化マーカーが増加していた。さらに、AMPK が低下し、mTORC1 が亢進していることも確認され、これらはメトホルミン投与によって改善した。実際に *Men1* KO では異所性形成骨の骨量、BV/TV、骨梁幅は低下していた。メトホルミン投与によって骨量は改善することがわかった。



(2) 骨折修復阻害モデルでは、偽関節部に一致した老化細胞の多数の集積を認めた。BMP-2 で治療した偽関節では、脂肪髄で骨質の悪い骨の形成を認めたのに加えて、骨再生部に老化細胞の蓄積を認めた。一方で、抗 mTOR 作用を有する薬剤の使用では、新生骨内の老化細胞は大きく減少し骨形成の増加を認めた。また、形成された骨は密度が高く、脂肪髄は認めなかった。偽関節治療における老化細胞除去の有効性が示唆される結果であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Masato Ikuta, Takashi Kaito, Takahito Fujimori, Takayuki Kitahara, Takuya Furuichi, Masayuki Bun, Hiromasa Hirai, Yuichiro Ukon, Yuya Kanie, Shota Takenaka, Seiji Okada	4. 巻 12
2. 論文標題 Review of Basic Research about Ossification of the Spinal Ligaments Focusing on Animal Models	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of clinical medicine	6. 最初と最後の頁 1958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm12051958	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kosuke Kita, Takahito Fujimori, Yuki Suzuki, Yuya Kanie, Shota Takenaka, Takashi Kaito, Takuyu Taki, Yuichiro Ukon, 以下26人	4. 巻 26
2. 論文標題 Bimodal artificial intelligence using TabNet for differentiating spinal cord tumors Integration of patient background information and images.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 107900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.107900	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Daisuke Tateiwa, Masahiro Iwamoto, Joe Kodama, Yuichiro Ukon, Hiromasa Hirai, Masato Ikuta, Takayuki Kitahara, Takuya Furuichi, Masayuki Bun, Satoru Otsuru, Seiji Okada, Takashi Kaito	4. 巻 -
2. 論文標題 A synthetic retinoic acid receptor antagonist (7C)-loaded nanoparticle enhances bone morphogenetic protein-induced bone regeneration in a rat spinal fusion model.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The spine journal : official journal of the North American Spine Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2023.11.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takahito Fujimori, Yuki Takahashi, Takahito Nagamoto, Shota Takenaka, Takashi Kaito, Yuya Kanie, Yuichiro Ukon, Masayuki Furuya, Tomiya Matsumoto, Shinya Okuda, Motoki Iwasaki, Seiji Okada	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of patient-reported outcome for adult spinal deformity: validation study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 1286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-51783-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masato Ikuta, Takashi Kaito, Takahito Fujimori, Takayuki Kitahara, Takuya Furuichi, Masayuki Bun, Hiromasa Hirai, Yuichiro Ukon, Yuya Kanie, Shota Takenaka, Seiji Okada	4. 巻 12
2. 論文標題 Review of Basic Research about Ossification of the Spinal Ligaments Focusing on Animal Models	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of clinical medicine	6. 最初と最後の頁 1958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm12051958	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kosuke Kita, Takahito Fujimori, Yuki Suzuki, Yuya Kanie, Shota Takenaka, Takashi Kaito, Takuyu Taki, Yuichiro Ukon, 以下26人	4. 巻 26
2. 論文標題 Bimodal artificial intelligence using TabNet for differentiating spinal cord tumors-Integration of patient background information and images.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 107900
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.107900	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Daisuke Tateiwa, Masahiro Iwamoto, Joe Kodama, Yuichiro Ukon, Hiromasa Hirai, Masato Ikuta, Takayuki Kitahara, Takuya Furuichi, Masayuki Bun, Satoru Otsuru, Seiji Okada, Takashi Kaito	4. 巻 -
2. 論文標題 A synthetic retinoic acid receptor antagonist (7C)-loaded nanoparticle enhances bone morphogenetic protein-induced bone regeneration in a rat spinal fusion model.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The spine journal : official journal of the North American Spine Society	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.spinee.2023.11.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takahito Fujimori, Yukitaka Nagamoto, Shota Takenaka, Takashi Kaito, Yuya Kanie, Yuichiro Ukon, Masayuki Furuya, Tomiya Matsumoto, Shinya Okuda, Motoki Iwasaki, Seiji Okada	4. 巻 14
2. 論文標題 Development of patient-reported outcome for adult spinal deformity: validation study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 1286
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-024-51783-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 文 勝徹, 生田 雅人, 北原 貴之, 古市 拓也, 右近 裕一郎, 高橋 惇司, 平井 宏昌, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人, 武中 章太等
2. 発表標題 テリパラチドによる細胞老化と骨形成能の変化
3. 学会等名 脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 右近 裕一郎, 海渡 貴司, 武中 章太, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人, 平井 宏昌, 柏井 将文, 岩崎 幹季, 岡田 誠司
2. 発表標題 脊椎 化膿性脊椎炎術後合併症の予測スコアリング式の確立 多施設データベース研究
3. 学会等名 第46回日本骨・関節感染症学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤森 孝人, 鈴木 裕紀, 武中 章太, 蟹江 祐哉, 喜多 洸介, 海渡 貴司, 右近 裕一郎, 中嶋 望, 木戸 尚治, 岡田 誠司
2. 発表標題 頸椎前彎角を自動計測する人工知能の開発
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 右近 裕一郎, 武中 章太, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人, 柏井 将文, 岩崎 幹季, 海渡 貴司, 岡田 誠司
2. 発表標題 化膿性脊椎炎術後合併症の予測スコアリング式の確立 多施設データベース研究
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中嶋 望, 鈴木 裕紀, 藤森 孝人, 喜多 洸介, 右近 裕一朗, 蟹江 裕哉, 武中 章太, 海渡 貴司, 木戸 尚治, 岡田 誠司
2. 発表標題 Deep Learningを用いた側彎症患者の脊椎自動パラメータ計測
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北原 貴之, 立岩 大輔, 生田 雅人, 平井 宏昌, 古市 拓也, 文 勝徹, 高橋 淳司, 右近 裕一朗, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人等
2. 発表標題 骨老化をターゲットとした新規偽関節治療
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 平井 宏昌, 生田 雅人, 北原 貴之, 文 勝徹, 古市 拓也, 武中 章太, 藤森 孝人, 蟹江 祐哉, 高橋 淳司, 右近 裕一朗 等
2. 発表標題 ポリリン酸ジエステルを用いた新規骨指向性BMP-2担体の開発
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 文 勝徹, 生田 雅人, 北原 貴之, 古市 拓也, 右近 裕一朗, 高橋 淳司, 平井 宏昌, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人, 武中 章太等
2. 発表標題 テリパラチドによる細胞老化と骨形成能の変化
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 生田 雅人, 北原 貴之, 文 勝徹, 古市 拓也, 高橋 惇司, 平井 宏昌, 右近 裕一朗, 蟹江 祐哉, 藤森 孝人, 武中 章太等
2. 発表標題 マグネトロンスパッタリングを用いたストロンチウム蒸着PEEKの骨形成効果
3. 学会等名 第52回脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北原貴之、立岩大輔、生田雅人、平井宏昌、古市拓也、文勝徹、高橋惇司、右近裕一朗、岡田誠司、海渡貴司
2. 発表標題 骨老化をターゲットにした新規偽関節治療
3. 学会等名 日本運動器移植・再生医学学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北原貴之、立岩大輔、生田雅人、平井宏昌、古市拓也、文勝徹、高橋惇司、右近裕一朗、蟹江祐哉、藤森孝人、武中章太、岡田誠司、海渡貴司
2. 発表標題 骨老化をターゲットにした新規偽関節治療
3. 学会等名 脊椎脊髄病学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kitahara T1, Tateiwa D2, Ikuta M1, Hirai H1, Bun M1, Furuichi T1, Takahashi A3, Ukon Y4, Okada S1, Kaito T1
2. 発表標題 A Novel treatment strategy for Nonunion targeting senescence cells
3. 学会等名 Biospine AP (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------