

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：33602

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2020

課題番号：16H02691

研究課題名(和文) Wntシグナルネットワークを基盤とした歯槽骨代謝回転制御法の開発

研究課題名(英文) Development of alveolar bone turnover control method based on Wnt signaling network

研究代表者

小林 泰浩 (Kobayashi, Yasuhiro)

松本歯科大学・総合歯科医学研究所・教授

研究者番号：20264252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,450,000円

研究成果の概要(和文)：本課題は歯槽骨を含む骨組織の代謝回転におけるWntシグナルの役割の解明を目指した。Sfrp5は、Wnt阻害因子としての作用に加え、未知の受容体に結合し骨芽細胞分化を促進することを明らかにした。破骨細胞の骨吸収活性を制御するRor2-Rho-Pkn3-c-Srcシグナルを同定した。さらに、Pkn3阻害薬が新たな骨吸収抑制薬のシーズになる可能性を示した。また、破骨細胞が骨細胞のスクレロスチン発現を低下させる因子としてleukemia inhibitory factor(LIF)を同定した。以上から、Sfrp5、Pkn3やLIFが活性化する骨代謝回転を調節する新規パスウェイを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脂肪細胞から分泌されるSfrp5が破骨細胞分化を抑制し骨芽細胞を分化することが明らかになった。今まで骨芽細胞への分化が抑制されると脂肪細胞への分化が逆に促進されたと考えられてきたが、脂肪細胞が骨芽細胞の分化を促進する、新たな可能性が示された。さらに本申請課題で明らかになったPkn3阻害剤は新たな骨吸収抑制薬のシーズとなりうる。破骨細胞から分泌されるLIFが骨細胞のスクレロスチン発現を抑制することが明らかになった。これは全く新規のパスウェイであり、今後骨リモデリングの分子機構を解明する糸口になる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study clarified roles of Wnt signals in the turnover of bone tissue including alveolar bone. We clarify the possibility that Sfrp5 binds to unknown receptors and promotes osteoblast differentiation in addition to its known function as Wnt inhibitors. A new Rot2-Rho-Pkn3-c-Src signal was identified as a signal that regulates the bone resorption activity of osteoclasts. Furthermore, results have been obtained showing that Pkn3 inhibitors can become seeds for new bone resorption inhibitors. We also found that osteoclasts secrete leukemia inhibitory factor (LIF) as a factor that reduces sclerostin expression in osteocytes. From the above, it was clarified that the turnover of bone metabolism may be regulated by molecules such as Sfrp5, Pkn3, and LIF.

研究分野：生化学

キーワード：Wnt 破骨細胞 骨芽細胞 骨細胞 スクレロスチン

1. 研究開始当初の背景

歯槽骨代謝回転の速さは、歯科矯正治療期間を決める一因である。骨代謝回転の低い成人では治療期間は長くなる。歯科矯正治療期間の短縮が望まれているが、実現には至っていない。これは歯槽骨代謝回転を調節する分子基盤が十分に解明されていないためである。Wntはβ-カテニンを介する古典経路とそれを介さない非古典経路を活性化する。Wnt 古典経路は、骨芽細胞の分化を促進する。また、破骨細胞分化抑制因子であるosteoprotegerin (OPG) の発現を誘導し骨吸収を抑制する。骨細胞から分泌されるスクレロスチンはWnt 古典経路を阻害し、骨形成を抑制する。骨芽細胞から分泌されるWnt5a が破骨前駆細胞のRor2 共受容体に結合し、RANK の発現を上昇させる。これにより破骨細胞への分化が亢進する。脂肪細胞から分泌されるWnt 阻害因子secreted frizzled-related protein 5 (Sfrp5) は、破骨細胞の分化を抑制し、骨芽細胞の分化を促進することを見出している。また、破骨細胞はスクレロスチンの発現を抑制する未知の因子を分泌する。以上の知見から、Wnt リガンドやその阻害因子がWnt シグナルネットワークを構築し、骨代謝回転を調節している。Wnt シグナルネットワークの分子基盤が解明されることで、分子基盤に基づいた歯槽骨代謝回転の制御法が確立できる。

2. 研究の目的

(1) Sfrp5による骨量増加機構の解明：Wnt 阻害因子Sfrp5 は脂肪組織から分泌されるアディポカインである。骨芽細胞の培養においてSfrp5 を発現させたところ、石灰化が亢進することを見出した。そこで、Sfrp5 による骨形成作用、骨吸収作用をSfrp5 遺伝子欠損(KO)マウス、Sfrp5 トランスジェニック(Tg)マウスの解析からSfrp5 による骨量増加機構を明らかにする。

(2) Ror2 シグナルによる破骨細胞活性化機構の解明：破骨細胞特異的にRor2 遺伝子を欠損させたマウス(Ror2 ΔOC)を解析したところ、Ror2 ΔOC は破骨細胞による骨吸収活性が顕著に低下したことによる骨量増加を呈した。さらに、破骨細胞におけるRor2 シグナルの下流を探索した結果、Protein kinase n3(Pkn3)が、骨吸収活性に必要な分子であるc-Src と結合し、破骨細胞の機能発現に重要であることを見出した。そこで、Pkn3 と相互作用する分子を同定し、Wnt5a - Ror2 シグナルによる破骨細胞の機能発現機構を解明する。さらに、Pkn3 のキナーゼ活性を抑制する低分子化合物を同定し、新たな骨吸収抑制薬を歯槽骨代謝回転の制御に応用する。

(3) スクレロスチンの発現を抑制する破骨細胞由来因子の同定：破骨細胞の培養上清に含まれる因子がスクレロスチンの発現を抑制することを見出している。この未知因子を同定する。

3. 研究の方法

(1) Sfrp5 に骨代謝調節機構：Sfrp5 欠損マウスの大腿骨をmicroCT 解析、骨形態計測解析に供した。マウス頭蓋冠由来細胞をBMP2 で刺激し骨芽細胞分化を誘導した。この培養にリコンビナントSfrp5 を添加し、アルカリホスファターゼの発現、石灰化結節の形成、遺伝子発現を解析した。

(2) Pkn3 による破骨細胞骨吸収活性調節機構：野生型マウス、破骨細胞特異的Ror2 欠損マウス、Pkn3 欠損マウスの大腿骨をmicroCT 解析、骨形態計測解析に供した。これらマウスから採取した骨髄マクロファージを、RANKL とM-CSF で刺激し、破骨細胞を形成した。骨切片上で破骨細胞を形成し、骨吸収活性を解析した。アデノウイルスを使った恒常活性型Rac1 及びRhoA、野生型Pkn3、変異型Pkn3 を破骨細胞に強制発現した。これらの破骨細胞を骨切片上で培養し、骨吸収活性を解析した。

(3) 骨リモデリングにおける Sost 発現制御機構の解析: 12 週令の osteoprotegerin 欠損マウス (OPGKO) および野生型マウスの長管骨を解析に用いた。採取した長管骨は、組織学的な解析とリアルタイム PCR を用いた遺伝子の発現解析を行った。UMR106 培養細胞を用いてスクレロステチンの発現を抑制する因子を破骨細胞培養上清からの同定を試みた。破骨細胞の培養上清を抗体アレイに供し、破骨細胞から分泌される因子を同定した。抗 RANKL 抗体を投与し、骨吸収を抑制したマウスの長管骨を採取し、上記に従い、骨代謝マーカー、スクレロステチンの発現を解析した。

(4) 海綿骨におけるスクレロステチンの発現制御機構

スクレロステチン発現細胞を可視化し、かつスクレロステチン遺伝子をノックアウトする為、スクレロステチン遺伝子の翻訳開始部位に ZsGreen cDNA を挿入したスクレロステチン遺伝子ノックインノックアウトマウス (Sost Green) を作出した。このマウスと野生型マウスを用いて、組織学的にスクレロステチン発現骨芽細胞の局在を解析した。また、野生型マウスに抗 RANKL 抗体を投与し、骨吸収を抑制したときの、スクレロステチン陽性細胞の局在と骨代謝パラメータを形態計測、リアルタイム PCR を用いた遺伝子発現解析によって解析した。

4. 研究成果

(1) Sfrp5 による骨代謝調節機構の解析

Secreted Frizzled-related protein 5 は Sfrp ファミリーに属する Wnt シグナル阻害因子である。脂肪細胞から分泌されることが報告されているが、骨代謝におけるその役割は明らかではない。Sfrp5KO マウスの骨組織を解析した結果、Sfrp5KO マウスは海綿骨の著しい減少を呈した。骨形態計測の結果、Sfrp5KO マウスの骨組織では、破骨細胞が増加し骨吸収が亢進するものの、骨形成パラメータは低下していた。つまり、Sfrp5KO マウスは、骨吸収が亢進するものの、骨形成が低下する骨代謝回転を示した。破骨細胞の培養系にリコンビナント Sfrp5 を添加すると、破骨細胞分化が抑制された。我々は、Wnt5a が破骨細胞前駆細胞の RANK 発現を亢進することを報告している。Sfrp5 の添加は、Wnt5a による RANK 陽性細胞数の増加を抑制した。次に、骨芽細胞分化における Sfrp5 の役割を培養実験で検討した。リコンビナント Sfrp5 は BMP2 誘導性の骨芽細胞の分化を促進した。骨芽細胞分化培養系において、Sfrp5 の添加によって、発現が上がる転写因子が 5 つ見出された。今後、この 5 つ転写因子の骨芽細胞分化における役割をさらに解析する。

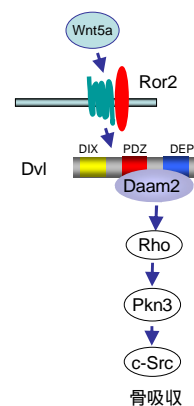


図1 破骨細胞の骨吸収活性を制御する Wnt5a-Ror2-Pkn3シグナル
Uehara et al. *Science Signaling*, 2017

(2) Wnt5a-Ror2-PKN3-cSrc シグナル軸による破骨細胞骨吸収活性調節機構

破骨細胞分化に伴って Wnt5a 発現が増加することを見出した。さらに、Wnt5a 欠損マウスの骨髄マクロファージから分化させた破骨細胞は、骨吸収活性が著しく低下していた。そこで、カテプシン K Cre マウスと Ror2-flxed マウスを交配し、成熟破骨細胞で Wnt5a の共受容体である Ror2 を欠損したマウス (Ror2Δ0cl) の大腿骨を解析した。Ror2Δ0cl は骨吸収不全を伴う高骨量を呈した。骨形態計測解析の結果、Ror2Δ0cl の骨組織では、破骨細胞数の減少は認められず、吸収活性が低下していることが明らかになった。Ror2 の下流で低分子量 G タンパク質である Rac

および Rho が活性化されることから、恒常活性型の RhoA および Rac1 を Ror2 Δ Ocl から調整した破骨細胞に発現させ、骨吸収活性を解析した。Ror2 Δ Ocl から調整した破骨細胞は、骨吸収活性が著しく低下したが、恒常活性型 RhoA を発現すると低下した骨吸収活性が回復した。恒常活性型 Rac1 では、そのような効果は認められなかった。破骨細胞は、Rho 下流で働く 13 種類の Rho エフェクターの中で、Pkn3 を強く発現した。そこで、Pkn3 欠損マウス (Pkn3K0) の骨組織を解析した。Pkn3K0 は、骨吸収不全を伴う高骨量を示した。In vitro の実験系において、Pkn3K0 から形成した破骨細胞は、骨吸収活性の著しい低下が認められた。免疫沈降によって Pkn3 は破骨細胞の骨吸収活性に重要である c-Src および Pyk2 と会合することを明らかにした。さらに、野生型 Pkn3 と c-Src との会合に必要なプロリンリッチ領域 (PPR) あるいはキナーゼドメインを欠失した変異体 Pkn3 を作製し、Pkn3K0 由来破骨細胞に発現させた。野生型 Pkn3 を発現した Pkn3K0 由来破骨細胞は、骨吸収活性の顕著な回復が認められたものの、変異 Pkn3 の発現では、骨吸収活性の回復は認められなかった。以上から、成熟破骨細胞において Wnt5a-Ror2-Rho-Pkn3-c-Src シグナルが骨吸収活性に重要であることが明らかになった (図 1) (引用文献 1, 2)。

Pkn3 の阻害剤を探索する過程で、p38MAPK 阻害剤である SB202190 が Pkn3 活性を阻害することが報告されていることを見出した。そこで、SB202190 と構造が類似した p38MAPK 阻害剤である SB203580 の骨吸収に対する効果を検討した。培養系において、0.1 μ M SB202190 は破骨細胞の骨吸収活性を抑制したが、SB203580 は、骨吸収を抑制しなかった。閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出マウスに両薬剤を投与した。SB203580 ではなく、SB202190 の投与は卵巣摘出による骨量減少を阻害した。以上から、骨減少を呈する骨代謝疾患に SB202190 の投与は有効である。

(3) 骨リモデリングにおける Sost 発現制御機構の解析

骨リモデリング過程における骨吸収から骨形成への移行に、いくつかの骨代謝共役因子が作用することが報告されている。しかし、骨代謝共役における骨細胞の役割は明らかではない。骨吸収阻害因子である Osteoprotegerin (OPG) を欠損したマウス (OPG-K0) は、骨吸収と骨形成がともに増加した高回転型の骨代謝を示す。OPG-K0 の骨組織における Wnt/ β -カテニンシグナルおよびスクレロステチンの発現をリアルタイム PCR 法と免疫組織学的方法を用いて解析した。OPG-K0 マウス皮質骨では、野生型マウスの皮質骨に比べて、Wnt- β カテニンシグナルが活性化されていた。しかし、OPG-K0 の骨組織で顕著に発現する Wnt リガンドはなかったものの、スクレロステチンの発現が著しく低下していることを見出した。次に OPG-K0 と同様に、骨吸収が亢進する RANKL-Tg マウスの皮質骨におけるスクレロステチンの発現を解析した。RANKL-Tg マウスにおいても、スクレロステチンの発現が有意に減少し、骨形成パラメータの値は亢進した。細胞培養実験において、破骨細胞がスクレロステチンの発現を抑制するかを解析した。UMR106 細胞はスクレロステチンを発現することが知られている。この細胞の培養に、破骨細胞の培養から採取した培地を添加し、スクレロステチンの発現をウェスタンブロッティング法で解析した。破骨細胞の培養から調節した培地を添加すると、UMR106 細胞におけるスクレロステチンの発現は顕著に抑制された。プロテインアレイを用いて、破骨細胞から分泌される因子を解析した結果、破骨細胞は leukemia inhibitory factor (LIF) を発現することが明らかになった。UMR106 細胞の培養に LIF を添加すると、スクレロステチンの発現は顕著に抑制された。さらに、破骨細胞の培養上清をあらかじめ LIF の中和抗体で処理すると、スクレロステチンの発現抑制効果は消失した。この結果は、破骨細胞は LIF を分泌し、骨細胞のスクレロステチンの発現を抑制する可能性を示唆する。最後に、OPG-K0 に抗 RANKL 抗体を投与し、骨吸収を抑制した際の、スクレロステチンと LIF の発現を免疫組織化学的

手法とリアルタイム PCR 法で解析した。OPG KO マウスの骨組織では、破骨細胞と思われる LIF 陽性の大型の細胞が多数観察された。しかし、抗 RANKL 抗体を投与すると、LIF 陽性細胞は顕著に消失した。この結果と並行して、スクレロステチンの発現も顕著に増加した。また、Wnt/ β -カテニンシグナルの標的遺伝子である Axin2 の発現も顕著に低下した。以上から、破骨細胞は LIF を分泌し、骨細胞におけるスクレロステチンの発現を抑制する。その結果、Wnt/ β -カテニンシグナルが亢進し、骨芽細胞による骨形成が促進されるシグナル軸が存在する可能性示唆された (図 2, 引用文献 3)。

(4) 破骨細胞は海綿骨におけるスクレロステチンの発現を抑制する(引用文献 4)

皮質骨と比べて海綿骨では骨代謝回転が速いことが知られている。我々は、皮質骨に比べて海綿骨ではスクレロステチンの発現が低下しているかを免疫組織学的とマウスジェネティックスを用いて解析した。マウスの *Sost* 遺伝子に ZsGreen cDNA を挿入したノックインノックアウトマウス (*Sost*-Green) を作出した。海綿骨では、スクレロステチン陽性骨細胞が顕著に減少した。また、海綿骨では皮質骨に比べ、骨表面長さあたりの破骨細胞数が有意に多いこと、破骨細胞に近接した骨細胞のスクレロステチン発現は弱いことが明らかになった。骨吸収を抑制するため、野生型マウスに抗 RANKL 抗体を投与した。その結果、海綿骨の破骨細胞は著しく消失し、LIF 陽性細胞も消失した。この時のスクレロステチン発現、 β -カテニン発現、骨形成パラメータを組織学的に解析した。抗 RANKL 抗体の投与は、スクレロステチンの発現を増加し、骨表面の骨芽細胞と思われる細胞の β -カテニン蓄積を減少させた。さらに、石灰化速度などの骨形成パラメータを顕著に抑制した。この結果は、海綿骨において破骨細胞は LIF を分泌し骨細胞のスクレロステチン発現を抑制することで、骨形成を促進し、高骨代謝回転状態に維持することが示唆された。

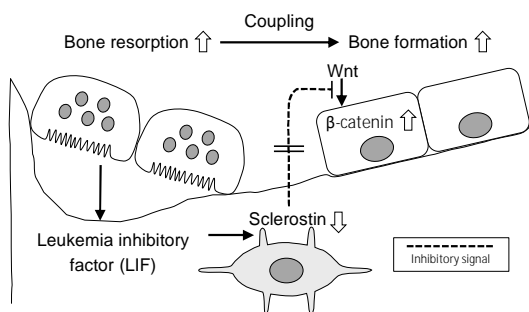


図2 破骨細胞はLIFを分泌し、骨細胞のスクレロステチン発現を低下しWntシグナルを亢進することで、骨形成を促進する

<引用文献>

- (1) Uehara S, Udagawa N, Mukai H et al. Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling. **Sci Signal.** 2017 10(494):eaan0023. doi: 10.1126/scisignal.aan0023.
- (2) Uehara S, Udagawa N, Kobayashi Y. Non-canonical Wnt signals regulate cytoskeletal remodeling in osteoclasts. **Cell Mol Life Sci.** 2018 Oct;75(20):3683-3692. doi: 10.1007/s00018-018-2881-1. Epub 2018 Jul 26.
- (3) Koide M, Kobayashi Y, Yamashita T et al., Bone Formation Is Coupled to Resorption Via Suppression of Sclerostin Expression by Osteoclasts. **J Bone Miner Res.** 2017 Oct;32(10):2074-2086. doi: 10.1002/jbmr.3175. Epub 2017 Jun 15.
- (4) Koide M, Yamashita T, Murakami K, et al. Sclerostin expression in trabecular bone is downregulated by osteoclasts. **Sci Rep.** 2020 Aug 13;10(1):13751. doi: 10.1038/s41598-020-70817-1.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 25件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Kim Hyun-Taek, Yin Wenguang, Nakamichi Yuko, Panza Paolo, Grohmann Beate, Buettner Carmen, Guenther Stefan, Ruppert Clemens, Kobayashi Yasuhiro, Guenther Andreas, Stainier Didier Y. R.	4. 巻 116
2. 論文標題 WNT/Ryk signaling restricts goblet cell differentiation during lung development and repair	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 25697 ~ 25706
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1911071116	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 該当する
1. 著者名 Maeda Kazuhiro, Kobayashi Yasuhiro, Koide Masanori, Uehara Shunsuke, Okamoto Masanori, Ishihara Akihiro, Kayama Tomohiro, Saito Mitsuru, Marumo Keishi	4. 巻 20
2. 論文標題 The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5525 ~ 5525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20225525	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 Uehara Shunsuke, Udagawa Nobuyuki, Kobayashi Yasuhiro	4. 巻 61
2. 論文標題 Regulation of osteoclast function via Rho-Pkn3-c-Src pathways	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 135 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2019.07.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ozaki Kakeru, Yamada Takanori, Horie Tetsuhiro, Ishizaki Atsushi, Hiraiwa Manami, Iezaki Takashi, Park Gyujin, Fukasawa Kazuya, Kamada Hikari, Tokumura Kazuya, Motono Mei, Kaneda Katsuyuki, Ogawa Kazuma, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Kobayashi Yasuhiro, Shi Yun-Bo, Taylor Peter M., Hinoi Eiichi	4. 巻 12
2. 論文標題 The L-type amino acid transporter LAT1 inhibits osteoclastogenesis and maintains bone homeostasis through the mTORC1 pathway	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaaw3921
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aaw3921	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yang Mengyu, Arai Atsushi, Udagawa Nobuyuki, Zhao Lijuan, Nishida Daisuke, Murakami Kohei, Hiraga Toru, Takao Kawabata Ryoko, Matsuo Koichi, Komori Toshihisa, Kobayashi Yasuhiro, Takahashi Naoyuki, Isogai Yukihiko, Ishizuya Toshinori, Yamaguchi Akira, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 34
2. 論文標題 Parathyroid Hormone Shifts Cell Fate of a Leptin Receptor Marked Stromal Population from Adipogenic to Osteoblastic Lineage	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 1952 ~ 1963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.3811	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka Yohsuke, Yamachika Eiki, Nakanishi Makoto, Ninomiya Tadashi, Akashi Sho, Kondo Sei, Moritani Norifumi, Kobayashi Yasuhiro, Fujii Tatsuo, Iida Seiji	4. 巻 9
2. 論文標題 Intermittent parathyroid hormone 1?34 induces oxidation and deterioration of mineral and collagen quality in newly formed mandibular bone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 s41598
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-44389-8	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 Ochiai Nagahiro, Nakachi Yutaka, Yokoo Tomotaka, Ichihara Takahiro, Eriksson Tore, Yonemoto Yuki, Kato Takehiko, Ogata Hitoshi, Fujimoto Natsuko, Kobayashi Yasuhiro, Udagawa Nobuyuki, Kaku Shinsuke, Ueki Tomokazu, Okazaki Yasushi, Takahashi Naoyuki, Suda Tatsuo	4. 巻 2
2. 論文標題 Murine osteoclasts secrete serine protease HtrA1 capable of degrading osteoprotegerin in the bone microenvironment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 s42003
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0334-5	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 Koide M, Kobayashi Y.	4. 巻 37
2. 論文標題 Regulatory mechanisms of sclerostin expression during bone remodeling	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 9-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami K, Zhifeng H, Suzuki T, Kobayashi Y, Nakamura Y.	4. 巻 37
2. 論文標題 The Shisa3 knockout mouse exhibits normal bone phenotype	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 967-975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koide Masanori, Kobayashi Yasuhiro	4. 巻 37
2. 論文標題 Regulatory mechanisms of sclerostin expression during bone remodeling	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Metabolism	6. 最初と最後の頁 9~17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-018-0971-7	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 Murakami Kohei, Kikugawa Shingo, Kobayashi Yasuhiro, Uehara Shunsuke, Suzuki Takako, Kato Hiroyuki, Udagawa Nobuyuki, Nakamura Yukio	4. 巻 505
2. 論文標題 Olfactomedin-like protein OLFML1 inhibits Hippo signaling and mineralization in osteoblasts	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 419~425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.09.112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uehara Shunsuke, Udagawa Nobuyuki, Kobayashi Yasuhiro	4. 巻 75
2. 論文標題 Non-canonical Wnt signals regulate cytoskeletal remodeling in osteoclasts	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cellular and Molecular Life Sciences	6. 最初と最後の頁 3683~3692
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00018-018-2881-1	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 Bando Jennifer K., Gilfillan Susan, Song Christina, McDonald Keely G., Huang Stanley C.-C., Newberry Rodney D., Kobayashi Yasuhiro, Allan David S.J., Carlyle James R., Cella Marina, Colonna Marco	4. 巻 48
2. 論文標題 The Tumor Necrosis Factor Superfamily Member RANKL Suppresses Effector Cytokine Production in Group 3 Innate Lymphoid Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Immunity	6. 最初と最後の頁 1208 ~ 1219.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.immuni.2018.04.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayashi Yasuhiro, Uehara Shunsuke, Udagawa Nobuyuki	4. 巻 60
2. 論文標題 Roles of non-canonical Wnt signaling pathways in bone resorption	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Oral Biosciences	6. 最初と最後の頁 31 ~ 35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.job.2018.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lee Ji-Won, Hoshino Akiyoshi, Inoue Kazuki, Saitou Takashi, Uehara Shunsuke, Kobayashi Yasuhiro, Ueha Satoshi, Matsushima Kouji, Yamaguchi Akira, Imai Yuuki, Iimura Tadahiro	4. 巻 8
2. 論文標題 The HIV co-receptor CCR5 regulates osteoclast function	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 2226
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-02368-5	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 Yang Mengyu, Arai Atsushi, Udagawa Nobuyuki, Hiraga Toru, Lijuan Zhao, Ito Susumu, Komori Toshihisa, Moriishi Takeshi, Matsuo Koichi, Shimoda Kouji, Zahalka Ali H., Kobayashi Yasuhiro, Takahashi Naoyuki, Mizoguchi Toshihide	4. 巻 7
2. 論文標題 Osteogenic Factor Runx2 Marks a Subset of Leptin Receptor-Positive Cells that Sit Atop the Bone Marrow Stromal Cell Hierarchy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-05401-1	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 Koide Masanori, Kobayashi Yasuhiro, Yamashita Teruhito, Uehara Shunsuke, Nakamura Midori, Hiraoka B. Yukihiro, Ozaki Yuki, Imura Tadahiro, Yasuda Hisataka, Takahashi Naoyuki, Udagawa Nobuyuki	4. 巻 32
2. 論文標題 Bone Formation Is Coupled to Resorption Via Suppression of Sclerostin Expression by Osteoclasts	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Bone and Mineral Research	6. 最初と最後の頁 2074 ~ 2086
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbmr.3175	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 Ozaki Yuki, Koide Masanori, Furuya Yuriko, Ninomiya Tadashi, Yasuda Hisataka, Nakamura Midori, Kobayashi Yasuhiro, Takahashi Naoyuki, Yoshinari Nobuo, Udagawa Nobuyuki	4. 巻 12
2. 論文標題 Treatment of OPG-deficient mice with WP9QY, a RANKL-binding peptide, recovers alveolar bone loss by suppressing osteoclastogenesis and enhancing osteoblastogenesis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0184904
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0184904	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 Uehara Shunsuke, Udagawa Nobuyuki, Mukai Hideyuki, Ishihara Akihiro, Maeda Kazuhiro, Yamashita Teruhito, Murakami Kohei, Nishita Michiru, Nakamura Takashi, Kato Shigeaki, Minami Yasuhiro, Takahashi Naoyuki, Kobayashi Yasuhiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 eaan0023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scisignal.aan0023	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 Murakami Kohei, Kobayashi Yasuhiro, Uehara Shunsuke, Suzuki Takako, Koide Masanori, Yamashita Teruhito, Nakamura Midori, Takahashi Naoyuki, Kato Hiroyuki, Udagawa Nobuyuki, Nakamura Yukio	4. 巻 12
2. 論文標題 A Jak1/2 inhibitor, baricitinib, inhibits osteoclastogenesis by suppressing RANKL expression in osteoblasts in vitro	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0181126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0181126	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 Yamashita Teruhito, Udagawa Nobuyuki, Thirukonda Gnanasagar Janardhanan, Uehara Shunsuke, Yamauchi Hirose, Suzuki Nobuo, Li Feng, Kobayashi Yasuhiro, Takahashi Naoyuki	4. 巻 246
2. 論文標題 Platypus and opossum calcitonins exhibit strong activities, even though they belong to mammals	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 270 ~ 278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2017.01.001	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 Thirukonda GJ, Uehara S, Nakayama T, Yamashita T, Nakamura Y, Mizoguchi T, Takahashi N, Yagami K, Udagawa N, Kobayashi Y	4. 巻 34
2. 論文標題 The dynamin inhibitor dynasore inhibits bone resorption by rapidly disrupting actin rings of osteoclasts.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Bone Miner Metab	6. 最初と最後の頁 395 - 405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00774-015-0683-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mass E, Ballesteros I, Farlik M, Halbritter F, Günther P, Crozet L, Jacome-Galarza CE, Hündler K, Klughammer J, Kobayashi Y, Gomez-Perdiguerro E, Schultze JL, Beyer M, Bock C, Geissmann F	4. 巻 353
2. 論文標題 Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Science	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) 10.1126/science.aaf4238	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Akiyama N, Takizawa N, Miyauchi M, Yanai H, Tateishi R, Shinzawa M, Yoshinaga R, Kurihara M, Demizu Y, Yasuda H, Yagi S, Wu G, Matsumoto M, Sakamoto R, Yoshida N, Penninger JM, Kobayashi Y, Inoue J, Akiyama T.	4. 巻 213
2. 論文標題 Identification of embryonic precursor cells that differentiate into thymic epithelial cells expressing autoimmune regulator.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Exp Med.	6. 最初と最後の頁 1441 - 1458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20151780.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Y, Uehara S, Udagawa N, Takahashi N.	4. 巻 159
2. 論文標題 Regulation of bone metabolism by Wnt signals.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Biochem.	6. 最初と最後の頁 387 - 392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvv124	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小林泰浩
2. 発表標題 Wntシグナルによる骨吸収制御機構
3. 学会等名 第30回骨代謝研究会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasuhiro Kobayashi
2. 発表標題 Regulation of bone resorption by Wnt signals
3. 学会等名 13th Bone Biology Forum (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Yasuhiro Kobayashi, Shunsuke Uehara
2. 発表標題 Roles of Wnt signals in bone resorption
3. 学会等名 第59回歯科基礎医学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林泰浩
2. 発表標題 Wntシグナルによる骨吸収制御と関節炎
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林泰浩
2. 発表標題 Wntシグナルによる骨吸収制御
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 中村貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 Wnt5-Ror2シグナルによって活性化されるRho-PKN3経路はc-Srcを介して骨吸収を調節す
3. 学会等名 第34回日本骨代謝学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 Wnt5-Ror2シグナルはRho-PKN3-c-Src経路を介して破骨細胞の骨吸収活性を制御する
3. 学会等名 第58回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 中村貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 破骨細胞におけるRor2シグナルは炎症性骨破壊を増悪する
3. 学会等名 第2回日本骨免疫学会ウィンターセミナー
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林泰浩, 上原俊介, 山下照仁, 中村貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之
2. 発表標題 Wnt5a-Ror2-Rho-Pkn3シグナルによる破骨細胞の骨吸収機能制御
3. 学会等名 第3回日本骨免疫学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 中村貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 Wnt5a-Ror2シグナルによる骨吸収活性調節の病態モデルにおける役割
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小出雅則, 小林泰浩, 山下照仁, 上原俊介, 尾崎友輝, 飯村忠浩, 中村美どり, 保田尚孝, 高橋直之, 宇田川信之
2. 発表標題 破骨細胞由来のLIFは骨細胞におけるsclerostinの発現を低下させ、骨形成を促進する
3. 学会等名 第35回日本骨代謝学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koide M, Kobayashi Y, Yamashita T, Uehara S, Nakamura M, Hiraoka BY, Ozaki Y, Iimura T, Yasuda H, Takahashi N and Udagawa N
2. 発表標題 Osteoclast-derived LIF promotes bone formation through suppression of sclerostin expression
3. 学会等名 The American Society for Bone and Mineral Research (ASBMR) 2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小出雅則, 小林泰浩, 山下照仁, 上原俊介, 村上康平, 高橋直之, 宇田川信之
2. 発表標題 スクレロスチン発現の抑制を介する破骨細胞による海綿骨の骨形成促進
3. 学会等名 第3回日本骨免疫学会ウインターセミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上原俊介, 村上康平, 山下照仁, 小出雅則, 高橋直之, 宇田川信之, 小林泰浩
2. 発表標題 Wnt5a-Ror2シグナルによるPkn3を介した破骨細胞機能促進
3. 学会等名 第3回日本骨免疫学会ウインターセミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 小出雅則, 村上康平, 中村 貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 Pkn3阻害薬による破骨細胞の骨吸収制御
3. 学会等名 第4回日本骨免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 村上康平, 小出雅則, 中村 貴, 加藤茂明, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 Wnt5a-Ror2シグナルは、Daam2-Rho-Pkn3-c-Src経路を介して破骨細胞の骨吸収を促進する
3. 学会等名 第36回日本骨代謝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小出雅則, 小林泰浩, 山下照仁, 上原俊介, 村上康平, 高橋直之, 宇田川信之
2. 発表標題 破骨細胞はスクレロスチン発現を抑制して海綿骨の骨形成を促進する
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小出雅則, 小林泰浩, 山下照仁, 上原俊介, 村上康平, 高橋直之, 宇田川信之
2. 発表標題 破骨細胞はLIF発現を亢進して、スクレロスチン発現を抑制する
3. 学会等名 第4回日本骨免疫学会ウインターセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原俊介, 村上康平, 山下照仁, 小出雅則, 高橋直之, 宇田川信之, 小林泰浩
2. 発表標題 Pkn3阻害剤による骨吸収抑制
3. 学会等名 第4回日本骨免疫学会ウインターセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山下照仁
2. 発表標題 Sost遺伝子レポーターマウスの骨における解析
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 小出雅則, 村上康平, 宇田川信之, 高橋直之, 小林泰浩
2. 発表標題 OVXマウスの骨量減少に対するPkn3阻害剤の効果
3. 学会等名 第5回日本骨免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村上 康平, 宇田川信之, 上原俊介, 小出雅則, 山下照仁, 小林泰浩
2. 発表標題 WntアンタゴニストSfrp5は破骨細胞の分化を抑制し、骨芽細胞の分化を促進する
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上原俊介, 山下照仁, 村上康平, 小出雅則, 宇田川 信之, 小林泰浩
2. 発表標題 プロテインキナーゼN3 (Pkn3) 阻害剤は、卵巣切除に伴う骨量減少を骨吸収抑制により軽減する
3. 学会等名 第38回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2020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
研究分担者	平賀 徹 (Hiraga Tohru) (70322170)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	
研究分担者	山下 照仁 (Yamashita Teruhito) (90302893)	松本歯科大学・総合歯科医学研究所・准教授 (33602)	
研究分担者	上原 俊介 (Uehara Shunsuke) (90434480)	松本歯科大学・歯学部・講師 (33602)	
研究分担者	高橋 直之 (Takahashi Naoyuki) (90119222)	松本歯科大学・総合歯科医学研究所・特任教授 (33602)	

	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
連携研究者	溝口 利英 (Mizoguchi Toshihide) (90329475)	東京歯科大学・歯学部・准教授 (32650)	

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
---------	---------