

令和元年6月4日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K17980

研究課題名(和文)力学環境に依存した骨細胞の力学刺激感知・情報伝達特性の解明

研究課題名(英文) Clarifying the Mechanism of Osteocyte Mechanosensing and Intercellular Communication Depending on Mechanical Environment

研究代表者

亀尾 佳貴 (Kameo, Yoshitaka)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・助教

研究者番号：60611431

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、骨組織に対する定量的な力学的負荷実験と計算機シミュレーションによる力学解析とを相補的に活用することにより、骨リモデリング過程における力学環境に依存した骨細胞の力学刺激感知・情報伝達特性を明らかにすることを目的とした。本研究を通じ、骨組織への力学的負荷にともなって骨細胞に負荷される流れ刺激を定量的に評価することが可能となり、間質液の流れを介したシグナル分子の輸送挙動が明らかとなった。さらに、骨組織内細胞群の力学環境と骨代謝関連遺伝子発現との関係について基礎的な知見を獲得することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、骨細胞が力学環境に応じた骨リモデリングを実現し、組織としての恒常性を維持する機構、および、その破綻により様々な骨疾患へと至る機構の理解につながるものであり、骨細胞を標的とした新たな骨疾患治療薬や早期診断法の確立に貢献できると考えられる。さらに、高齢社会において問題視されているロコモティブシンドローム(運動器疾患)の予防・改善に向け、個人の生骨組織内における力学刺激量と骨細胞応答との関連を調べ、適切な運動方針を決定するなど、「オーダーメイド医療」への展開が期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed at clarifying the mechanism of osteocyte mechanosensing and intercellular communication depending on mechanical environment that regulates bone remodeling. Through complementary usage of mechanical experiment and computer simulation, to begin with, we quantitatively evaluated the flow stimuli given to osteocytes embedded in bone matrix. Then, we showed the flow-mediated transport behavior of signaling molecules produced by osteocytes. Finally, we identified the fundamental relationship between mechanical loading to bone tissue and bone metabolism-related gene expression in bone cells.

研究分野：バイオメカニクス

キーワード：骨細胞 骨リモデリング 骨小腔 骨細管系 力学刺激感知 間質液流れ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

骨の生理的機能の維持には、力学的因子が本質的な役割を果たしている。宇宙空間などの微小重力環境や寝たきり状態にともない力学的負荷が減少すると、骨密度の減少により、骨強度が著しく低下する。世界的に急速な高齢化の進展が予想される現在、骨粗しょう症をはじめとする骨の脆弱化を予防・治療し、高齢者の生活の質を向上させるためには、力学環境の変化に対する適応的な骨リモデリングのメカニズムを理解し、その知見を臨床に応用することが喫緊の課題である。骨組織は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成の繰返しにより常に改変されている。一方で、骨構成細胞数の約90%を占める骨細胞は、骨基質中で樹状の細胞突起を介した3次元ネットワークを形成していることから、力学刺激に対するセンサー細胞として骨吸収と骨形成のバランスを制御していると考えられており、次世代の骨疾患治療の標的細胞として期待されている。このように、骨細胞は骨リモデリングの司令細胞として注目され、組織学的・生理学的観点から国内外で精力的に研究が行われている。しかしながら、骨細胞は硬組織中に埋没しているため単離が難しく、いかにして力学刺激を感知し、その情報を破骨細胞や骨芽細胞に伝達しているのかは依然として不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では、骨組織に対する定量的な力学的負荷実験と計算機シミュレーションによる力学解析とを相補的に活用し、骨リモデリング過程における力学環境に依存した骨細胞の力学刺激感知・情報伝達特性に関する基礎的な知見の獲得を目指す。骨細胞の力学刺激感知・情報伝達過程においては、骨基質中の骨小腔 骨細管系内に生じる間質液の流れが重要な役割を果たしていると考えられている。そこで、骨組織への力学的負荷にともない骨細胞に負荷される流れ刺激を定量的に評価し、産生されるシグナル分子の輸送挙動を明らかにするとともに、骨組織内細胞群の力学環境と骨代謝関連遺伝子発現との関係を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 骨細胞に負荷される流れ刺激の定量評価

間質液流れを介した骨細胞の力学刺激感知過程において、流路である骨細管の形状や細胞周囲マトリックスなどの骨細胞周囲構造が骨細胞の流れ刺激に及ぼす影響を明らかにするため、流体構造連成解析により、間質液流れにともなう骨細胞突起のひずみを定量的に評価した。

#### (2) 間質液流れによるシグナル分子輸送解析

骨組織内のシグナル分子輸送における力学的負荷の影響を明らかにするため、骨組織への繰返し力学的負荷にともない駆動される間質液の流れを多孔質弾性論に基づく有限要素シミュレーションにより評価し、骨細胞より産生されたシグナル分子の移流・拡散挙動を解析した。

#### (3) 力学的負荷に対する骨代謝関連遺伝子発現解析

骨組織に対する定量的な力学的負荷と骨組織内細胞群による骨代謝関連遺伝子の発現との関係を明らかにするため、生体外に摘出した骨組織に対して定量的な力学的負荷を与えることが可能な *in vitro* 実験系を構築した。本実験系を用い、マウス大腿骨に繰返し4点曲げ負荷を与え、一定期間の器官培養の後、リアルタイムPCR解析により骨代謝関連遺伝子の発現量を評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) 骨細胞に負荷される流れ刺激の定量評価

骨細管内の細胞周囲マトリックスは、加齢や骨疾患により減少傾向を示すことから、それを構成するプロテオグリカンやテザリングエレメント密度の減少が骨細胞への流れ刺激に及ぼす影響を調べた。その結果、プロテオグリカン密度の減少は、骨細胞突起のひずみを全体的に減少させ、一方で、テザリングエレメントの減少は、細胞突起にひずみ集中を引き起こし、骨細胞突起に加わるひずみの最大値を増加させた(図1)。このことから、生理的な状態において、プロテオグリカンは、骨細胞突起の大域的なひずみを増幅させ、逆に、テザリングエレメントは、局所的な過度のひずみ集中を防ぐ役割を持つことが示唆された。

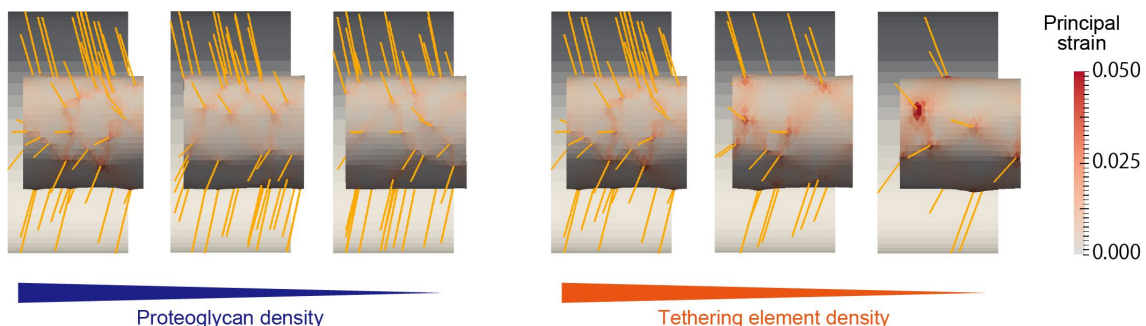


図1 間質液流れにともなう骨細胞突起の主ひずみの分布

(2) 間質液流れによるシグナル分子輸送解析

繰返し力学的負荷条件下、および無負荷条件下において、骨梁内の骨細胞から産生されるシグナル分子の輸送挙動を比較した。また、シグナル分子の分子量の相違が、間質液流れを介したシグナル分子輸送に及ぼす影響を調べた。その結果、シグナル分子の輸送は、骨梁への繰返し力学的負荷により駆動される間質液の流れにより促進されることが示された（図2左）。さらに、間質液流れによる輸送促進効果は、低分子量のシグナル分子に比べ、高分子量のシグナル分子の方が大きいことが示された（図2右）。

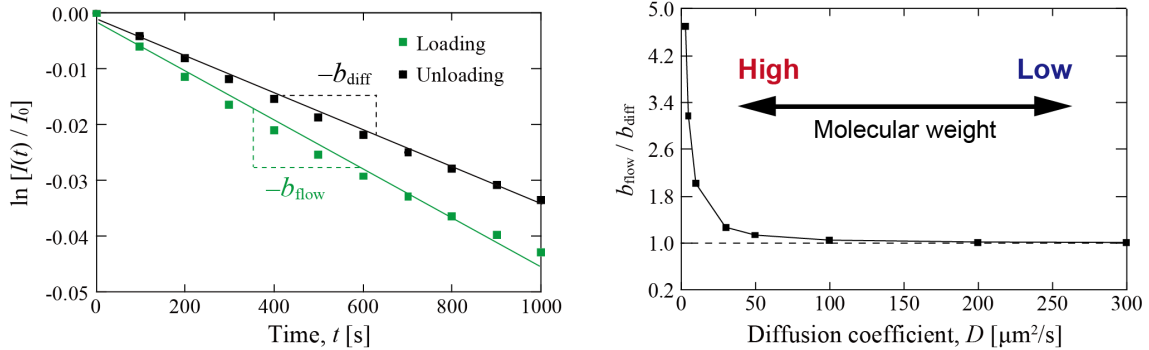


図2 骨梁内シグナル分子濃度の時間変化（左）と分子量に応じた輸送促進（右）

(3) 力学的負荷に対する骨代謝関連遺伝子発現解析

生体外に摘出したマウス大腿骨に対して繰返し4点曲げ負荷を与え、最大24時間の器官培養の後、リアルタイムPCR解析により力学的負荷群と無負荷群間で骨代謝関連遺伝子の発現量を比較した。その結果、各器官培養時間における力学的負荷群と無負荷群、および各群の経時変化において、有意な差や変動は認められなかった（図3）。器官培養中におけるアポトーシス関連遺伝子発現の経時変化を調べたところ、力学的負荷よりも器官培養中に進行するアポトーシスが骨代謝関連遺伝子の発現に大きな影響を及ぼしている可能性が示唆された。

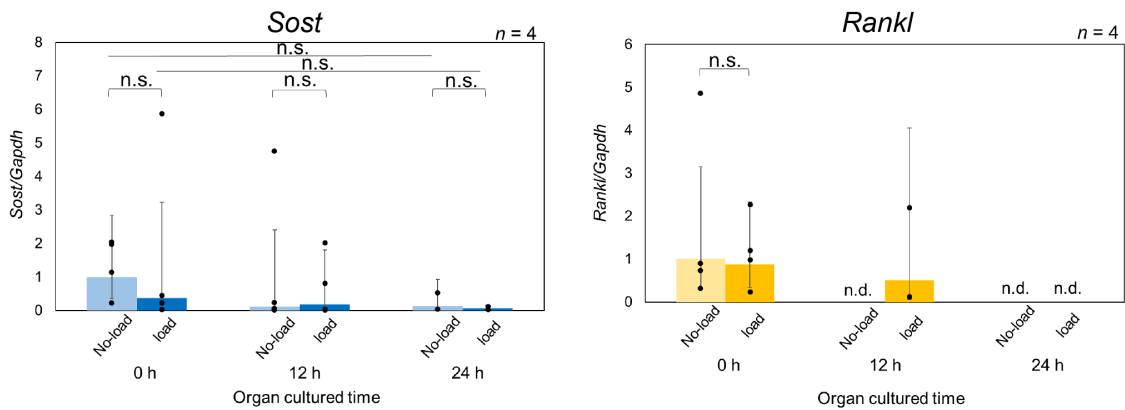


図3 マウス大腿骨の骨代謝関連遺伝子発現解析（*Sost* & *Rankl*）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計2件）

- (1) Masamu Inoue, Takehito Ono, Yoshitaka Kameo, Fumiyuki Sasaki, Takashi Ono, Taiji Adachi, Tomoki Nakashima, “Forceful Mastication Activates Osteocytes and Builds a Stout Jawbone”, *Scientific Reports*, 9, #4404, 2019.  
DOI: 10.1038/s41598-019-40463-3
- (2) Young Kwan Kim, Yoshitaka Kameo, Sakae Tanaka, Taiji Adachi, “Capturing Microscopic Features of Bone Remodeling into a Macroscopic Model Based on Biological Rationales of Bone Adaptation”, *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 16 (5), 1697-1708, 2017.  
DOI: 10.1007/s10237-017-0914-6

〔学会発表〕（計 21 件）

- (1) 亀尾佳貴, 宮雄貴, 安達泰治, “繰返し力学的負荷に応じた骨代謝・リモデリング動態の解析”, 日本機械学会第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 2B33, 福島, 2018.12.14-15.
- (2) 小笹正裕, 亀尾佳貴, 武石直樹, 安達泰治, “細胞突起周囲の微細環境変化にともなう骨細胞への間質液流れ刺激の数値解析評価”, 日本機械学会第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 1F44, 福島, 2018.12.14-15.
- (3) 石川敬一, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, “コラーゲンゲル上における分化骨細胞の配向とゲル内部への三次元的細胞移動”, 日本機械学会第 31 回バイオエンジニアリング講演会, 1F34, 福島, 2018.12.14-15.
- (4) 亀尾佳貴, 小笹正裕, 武石直樹, 安達泰治, “流体 構造連成解析による骨細胞への流れ刺激の in silico 評価”, 日本機械学会第 31 回計算力学講演会, 216, 徳島, 2018.11.21-23.
- (5) 亀尾佳貴, 小笹正裕, 武石直樹, 安達泰治, “骨細胞周囲の微細環境変化が間質液流れによる細胞突起変形に及ぼす影響”, 日本機械学会 2018 年度年次大会, No. 18-1, S0230205, 大阪, 2018.9.10-12.
- (6) 佐藤優里佳, 亀尾佳貴, 須長純子, 安達泰治, “力学負荷を受ける培養長管骨内細胞群の遺伝子発現解析”, 日本機械学会 2018 年度年次大会, No. 18-1, S0210205, 大阪, 2018.9.10-12.
- (7) 石川敬一, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, “三次元培養系を用いた分化骨細胞の力学的配向機構の検討”, 日本機械学会 2018 年度年次大会, No. 18-1, S0210104, 大阪, 2018.9.10-12.
- (8) Yoshitaka Kameo, Masahiro Ozasa, Naoki Takeishi, Taiji Adachi, “Pericellular Matrix in Canaliculus Regulates Flow-induced Deformation of Osteocyte Process”, 8th World Congress of Biomechanics (WCB2018), Dublin, Ireland, P2186, 2018.7.8-12.
- (9) Ariane Scheuren, Angad Malhotra, Gisela Kuhn, Yoshitaka Kameo, Ralph Müller, “Cyclic but Not Static Loading Increases Bone Mass in Mouse Caudal Vertebrae”, 8th World Congress of Biomechanics (WCB2018), Dublin, Ireland, O0624, 2018.7.8-12.
- (10) 亀尾佳貴, 小笹正裕, 武石直樹, 安達泰治, “細胞周囲マトリックスを介した骨細胞への流れ刺激の数理解析”, 第 38 回日本骨形態計測学会, Vol. 28, No. 2, p. S118, 大阪, 2018.6.21-23.
- (11) 小笹正裕, 亀尾佳貴, 武石直樹, 安達泰治, “多孔質骨梁中の流れによる骨細胞突起変形シミュレーション”, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会, p. 219, 京都, 2017.12.14-15.
- (12) 石川敬一, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, “ゲル上骨芽細胞様細胞の能動的配向における細胞内張力の役割”, 日本機械学会第 30 回バイオエンジニアリング講演会, p. 213, 京都, 2017.12.14-15.
- (13) 石川敬一, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, “張力センシングを介した骨芽細胞様細胞の能動的配向”, 第 34 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, S-251, 広島, 2017.10.31-11.2.
- (14) 小笹正裕, 亀尾佳貴, 武石直樹, 安達泰治, “骨細管内部構造が流れによる骨細胞メカノセンシングに及ぼす影響”, 第 34 回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, S-237, 広島, 2017.10.31-11.2.
- (15) 小笹正裕, 亀尾佳貴, 武石直樹, 安達泰治, “骨細胞周囲のプロテオグリカンが流れによる細胞突起変形に及ぼす影響”, 日本機械学会第 28 回バイオフロンティア講演会, 1B23, 徳島, 2017.10.28-29.
- (16) Yoshitaka Kameo, Masaya Miwa, Taiji Adachi, “Computational Investigation of the Effect of Molecular Weight on the Flow-mediated Signal Transport in Bone”, 5th Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics (SJB2017), Zermatt, Switzerland, p. 32, 2017.9.14-17.
- (17) 亀尾佳貴, 石原正行, 大多尾義弘, “骨小腔—骨細管系の構造的相違が骨梁リモデリングに及ぼす影響”, 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会, 2F15, 名古屋, 2017.1.19-20.
- (18) 三輪将也, 亀尾佳貴, 安達泰治, “間質液流れを介した細胞間シグナル輸送が骨の機能的適応に及ぼす影響”, 日本機械学会第 29 回バイオエンジニアリング講演会, 1F15, 名古屋, 2017.1.19-20.
- (19) 芦谷遼太郎, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, “マウス頭蓋冠と長管骨における単離骨細胞の形態比較”, 日本機械学会第 27 回バイオフロンティア講演会, No. 16-64, pp. 17-18, 札幌, 2016.10.22-23.
- (20) 三輪将也, 亀尾佳貴, 安達泰治, “骨細管内の間質液流れによるシグナル分子移流拡散シミュレーション”, 日本機械学会 2016 年度年次大会, J0220105, 福岡, 2016.9.11-14.
- (21) Yoshitaka Kameo, Satoshi Mitsunaga, Yoshihiro Ootao, Masayuki Ishihara, “Trabecular Bone Remodeling Simulation Considering Microstructure of Lacuno-canalicular Porosity”, 22nd Congress of the European Society of Biomechanics (ESB2016), Lyon, France, OS65-1, Total 1 page, 2016.7.10-13.

〔図書〕（計2件）

- (1) Yoshitaka Kameo, Ken-ichi Tsubota, Taiji Adachi, “Bone Adaptation: In Silico Approach”, Frontiers of Biomechanics Volume 2, Springer Japan, Total 209 pages, 2018.1.
- (2) Taiji Adachi, Yoshitaka Kameo, “Computational Biomechanics of Bone Adaptation by Remodeling”, Multiscale Mechanobiology of Bone Remodeling and Adaptation (CISM International Centre for Mechanical Sciences) (Peter Pivonka, Ed), Springer International Publishing, pp. 231-258, 2017.7

〔産業財産権〕 なし

〔その他〕

- (1) Yoshitaka Kameo, “Computational Modeling of Bone Adaptation to Cyclic Loading toward Linking Cellular-scale Flow Stimuli to Organ-scale Morphological Changes”, Cell Biology, Developmental Biology, and Systems Biology Course Meeting, Kyoto, 2018.12.7.
- (2) 亀尾佳貴, “骨代謝とリモデリングの数理バイオメカニクス”, メカノバイオロジー研究を学ぶ2018, 京都, 2018.10.12.
- (3) 亀尾佳貴, “生体組織の成長とリモデリングの数理バイオメカニクス”, 大阪府立母子保健総合医療センター研究所セミナー, 大阪, 2017.3.9.

6. 研究組織

(1)研究分担者 なし

(2)研究協力者 なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。