

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：15301

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(A））

研究期間：2019～2023

課題番号：18KK0464

研究課題名（和文）顎顔面領域稀少性遺伝子疾患における骨代謝制御機構とその破綻のエピゲノム解析

研究課題名（英文）Epigenetic analysis of regulating bone and mineral metabolism under rare disease in orthognathic lesion

研究代表者

井澤 俊（Izawa, Takashi）

岡山大学・医歯薬学域・准教授

研究者番号：30380017

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,000,000円

渡航期間： 3ヶ月

研究成果の概要（和文）：ワシントン大学との国際共同研究にてヘルパーT細胞分化に重要な転写制御因子ThPOKがNFATc1の転写と機能を介して破骨細胞形成を制御することを明らかにした。骨髄マクロファージにおけるThPOK発現は破骨細胞分化因子であるRANKL刺激に伴い減弱するものの、ThPOK発現の欠損は破骨細胞分化には影響しないこと。マクロファージへの過剰なThPOK発現は破骨細胞形成を制御するが、過度のThPOK発現はNFATc1プロモーターに結合することでその転写を制御するという破骨細胞抑制効果のあることが示唆された。以上の結果からThPOKはNFATc1の転写を抑制し破骨細胞活性を抑制していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

最近、我々は破骨細胞活性化因子のRANKLとダイオキシン受容体AhRとのシグナルクロストーク解明によるマクロファージから破骨細胞への分化機構の一端を明らかにした。ダイオキシン受容体の遺伝子破壊により、リガンド暴露による口蓋裂がなくなるという報告もあり、生物作用への直接的な関与が示されはじめています。また、歯科用レジンにも含まれるAhRリガンドが内分泌攪乱物質として働き破骨細胞分化を著しく抑制するといった報告もあり、免疫細胞内でのAhRシグナル伝達機構や病的状況下での動態解析がダイオキシンの毒性発現、骨量調節のメカニズム解明に本質的な知見を与えると共に、歯学系領域からの情報発信につながると考える。

研究成果の概要（英文）：Both LRF and ThPOK belong to the POK family of transcription repressors. Although LRF mediates osteoclast differentiation by regulating NFATc1 expression, the principal established function of ThPOK is transcriptional control of T-cell lineage commitment. Whether ThPOK affects osteoclast formation is not known. We find that marrow macrophage ThPOK expression diminishes with exposure to RANKL, but ThPOK deficiency does not affect osteoclast differentiation. On the other hand, enhanced ThPOK, in macrophages, substantially impairs osteoclastogenesis. Excess ThPOK binds the NFATc1 promoter and suppresses its transcription, suggesting a mechanism for its osteoclast inhibitory effect. Despite suppression of osteoclastogenesis by excess ThPOK being associated with diminished NFATc1, osteoclast formation is not rescued by NFATc1 overexpression. Thus, ThPOK appears to inhibit NFATc1 transcription and its osteoclastogenic capacity, while its depletion has no effect on the bone-resorptive cell.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：破骨細胞 エピゲノム RANKL 顎顔面領域稀少性遺伝子疾患 骨細胞

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究代表者は米国ワシントン大学 Steven L. Teitelbaum 教授との国際共同研究によりヒストンのメチル化を調節する核内タンパク Additional sex comb like 2 (ASXL2) が糖代謝、脂質代謝、及び骨代謝を調節していることを明らかにした¹⁾。ASXL1 は ASXL2 と同じヒストンのメチル化を調節する核内タンパクでありポリコム群遺伝子の一つである。骨粗鬆症検体を用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) を用いたこれまでの共同研究では ASXL1 がミエロイド系マクロファージの分化に重要な役割を果たすことが報告されている²⁾。ASXL1 が骨髄異形成症候群 (MDS) や三角頭蓋、口唇口蓋裂、関節障害による小下顎症などといった頭蓋顎顔面領域に多発性の骨代謝症状を示す稀少性先天異常 Bohring-Opitz (BOP) 症候群 (OMIM#605039) の原因遺伝子であることが最近報告されたものの、ASXL1 変異と機能的に予測されるエピジェネティック異常との関連は未だ不明瞭なままである。そこで、これらのファミリー分子機能の全体像を明らかにすることで、造血幹細胞由来ミエロイド系の一つ破骨細胞におけるエピジェネティック制御機構に関する基課題の基盤研究 (B) の課題を発展させた包括的な理解を深めることとした。さらに、エピジェネティック制御因子を原因遺伝子とする頭蓋顎顔面領域に重篤な症状を示す稀少性遺伝子疾患 Bohring-Opitz 症候群、骨粗鬆症や関節リウマチなどの病的状況下での新規骨リモデリング機構の解明を国際共同研究強化により実施することとした。

(2) ダイオキシン受容体として知られる転写因子 aryl hydrocarbon receptor (AhR) は、様々な組織に発現がみられ、最近になって一部の免疫細胞にも高発現していることが明らかになってきている。これまで、エピジェネティック制御因子の一つ AhR が Receptor Activator of NF- κ B Ligand (RANKL) シグナルを介した破骨細胞形成においても重要であることが報告されているものの、破骨細胞における AhR の発現調節や AhR による破骨細胞形成の詳細なメカニズムについては未だ不明な点が多い。最近、我々は破骨細胞活性化因子として知られている RANKL シグナルとダイオキシン受容体 AhR シグナル経路とのシグナルクロストーク解明によるマクロファージから破骨細胞への分化や活性化・維持機構の一端を明らかにした³⁾。ダイオキシン受容体の遺伝子破壊によりダイオキシンリガンド暴露による発癌や口蓋裂形成がなくなるという研究によりダイオキシン受容体の生物作用への直接的な関与が示されはじめています。また歯科用レジンにも含まれるビスフェノール A が内分泌攪乱物質として働き破骨細胞の分化を著しく抑制するといった *in vitro* での報告もあり、免疫細胞内での AhR シグナル伝達機構や骨折、顎関節を含む RA 病態などといった病的状況下での動態解析がダイオキシンの毒性発現、骨量調節のメカニズム解明に本質的な知見を与えると共に、歯学系領域からの情報発信につながると考えた。

2. 研究の目的

(1) 国際共同研究を行う米国ワシントン大学医学部は常に米国国立衛生研究所からの研究費獲得が全米でも上位にランクインし免疫学、遺伝学、代謝学の分野で著明な研究者が活躍している世界的にもトップレベルの大学であり、全米でも数少ない骨代謝研究の研究拠点を形成している。また、世界的にも有数の次世代シーケンシング、GENETICS 関係のデータベースやマウス作製 FANTOM を保有しておりシステムを駆使することで遺伝子改変マウスが迅速に作製可能となる。そこで、マクロファージや破骨細胞における ASXL1 や AhR と RANK/RANKL シグナルとのシグナルクロストーク機構を解析することを目的とするとともに関節リウマチ (RA) や骨折モデルを用いた病的状況下に集積する破骨細胞の骨芽細胞、骨細胞とのカップリング機構や臓器連関、RANKL-ASXL1-AhR シグナルクロストークをターゲットとするエピジェネティック代謝免疫療法開発の可能性について解明することを目的とした。

(2) LRF (Zbtb7a) と ThPOK (Zbtb7b) は発生、分化、がん化に関与する転写抑制の POK (BTB/POZ と Kruppel) ファミリーに属していることがすでに報告されている。LRF は NFATc1 発現を制御することによって破骨細胞分化を調節するものの、ThPOK の既に知られている機能としては T 細胞系譜の振り分けの転写制御が代表的なものとして広く知られている。そこで、T 細胞の分化に関わる ThPOK 分子が破骨細胞形成あるいは機能に影響しているかどうかは未だ明らかでないことが現状であるため、米国セントルイスにあるワシントン大学へ実際に現地へ赴き、Steven Teitelbaum 教授との国際共同研究を実施することを目的とした。

(3) これまで、Insulin-like growth factor (IGF) シグナルが Receptor activator NF- κ B ligand (RANKL) シグナルを介した破骨細胞形成においても重要であることが報告されている⁴⁾。しかしながら、破骨細胞における Insulin-like growth factor-I binding protein (IGFBP) による破骨細胞分化や骨代謝への詳細な影響については未だ不明な点が多いのが現状である。そこで今回、IGFBP シグナルを介した破骨細胞の分化および、骨折に対する反応を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) まず破骨細胞分化ステージでの ASXL、AhR、ThPOK、IGFBP の役割を解析するために、C57BL/6J 雌マウスの大腿骨より骨髓由来マクロファージ (BMM) を採取、培養を行った。その後 RANKL (100 ng/ml) と M-CSF (50 ng/ml) で刺激し、刺激後 24 時間から 96 時間までの BMM における ASXL、AhR、ThPOK、IGFBP の発現をリアルタイム PCR、ウェスタンブロットにより解析した。
- (2) 次に、ASXL、AhR、ThPOK、IGFBP 遺伝子を過剰発現させた C57BL/6J 雌マウス BMM を RANKL (100 ng/ml) と M-CSF (50 ng/ml) を用いて破骨細胞へ分化を誘導し、酒石酸耐性酸性リン酸 (TRAP) 染色キットを使用して多核の細胞を評価しました。また蛍光染色によるアクチンリング、骨吸収アッセイ、CTx-ELISA の評価も行った。
- (3) また、各種破骨細胞マーカーの解析を定量 PCR、ウェスタンブロット法を用いて解析を実施した。さらに、*in vitro* において IGFBP の各ドメインである IGF binding ドメイン、Thyroglobulin type-1 ドメインや AhR 各ドメインについての欠失体コンストラクトを作製し、ノックアウトマウス由来骨髓マクロファージへのレスキュー実験を行った。
- (4) さらに、*in vivo* における実験のため Maes らの先行研究⁵⁾に準じてマウス頸骨の骨折モデルを作製し、骨折から 14 日目の評価を μ CT、サフラニン O 染色、TRAP 染色を行った。

4. 研究成果

- (1) 破骨細胞前駆細胞 RAW264.7 細胞を用い解析を行ったところ、ASXL1 は RANKL 刺激によって誘導されるが、ASXL1 のノックダウンによって H3K27me3 の脱メチル化が減少し、RANKL による破骨細胞分化が誘導されることが判明し、さらに ASXL1 ノックダウンにより Jmjd3 の約 40 倍の発現上昇を認めた。一般的に、ポリコーム群は、ASXL1、2 と BaP1 からなる PR-DUB 複合体と、さらにヒストン H3 の 27 番目の Lys をトリメチル化するタンパク複合体 PRC2 (polycomb repressive complex 2) とヒストン H2A の 119 番目の Lys をユビキチン化する活性をもつ PRC1 のふたつの複合体の共同を介して、多くの分化関連遺伝子群に結合し、転写抑制に寄与する。しかしながら、ポリコーム群がどのように標的遺伝子群を認識し、それらの転写抑制に寄与するのか明らかにされていない。そこで本国際共同研究においてマクロファージを RANKL 刺激後のサンプルを用いてエピゲノム関連 PCR アレイを行ったところ、PRC2 複合体の一つである Ezh2 (Enhancer of zeste homologue 2) などが重要な役割を果たしている候補分子として明らかにすることができた。さらに、Ezh2 のノックダウンにより破骨細胞形成の著しい減少を認めた。
- (2) 研究代表者は米国セントルイスにあるワシントン大学の Steven Teitelbaum 教授との国際共同研究にてヘルパー T 細胞の分化に重要な POZ-ZF 転写制御因子 ThPOK が NFATc1 の転写と機能を介して破骨細胞形成を制御することを明らかにした。LRF (Zbtb7a) と ThPOK (Zbtb7b) は発生、分化、がん化に関与する転写抑制の POK (BTB/POZ と Kruppel) ファミリーに属していることがすでに報告されている。LRF は NFATc1 発現を制御することによって破骨細胞分化を調節するものの、ThPOK の既に知られている機能としては T 細胞系譜の振り分けの転写制御が代表的なものとして広く知られている。T 細胞の分化に関わる ThPOK 分子が破骨細胞形成あるいは機能に影響しているかどうかは未だ明らかでないことが現状である。今回の研究代表者による国際共同研究の成果として、骨髓由来マクロファージにおける ThPOK 発現は破骨細胞分化因子である RANKL 刺激に伴い減弱するものの、ThPOK 発現の欠損は破骨細胞分化には影響しないことが明らかとなった。一方で、マクロファージへの過剰な ThPOK 発現は破骨細胞形成を制御することが判明した。過度の ThPOK 発現は NFATc1 プロモーターに結合することでその転写を制御するという破骨細胞抑制効果のあるシグナル伝達経路が示唆された。過剰な ThPOK による破骨細胞形成の抑制が減弱する NFATc1 発現と関係しているにも関わらず、破骨細胞形成能は NFATc1 の過剰発現によってはレスキューされないことが明らかとなった。以上の結果から ThPOK は NFATc1 の転写を抑制し、その結果として破骨細胞活性を抑制していることが示唆された。研究成果は米国骨代謝学会のオンライン版機関誌である *JBMR Plus* 誌の論文においてセカンドオーサーとして報告した⁶⁾。
- (3) 本研究では、AhR の発現はマクロファージから破骨細胞分化における転写因子 c-Fos の発現上昇と同じ比較的早い分化ステージで上昇し、骨恒常性を制御する因子となることが明らかとなった。さらに、AhR による破骨細胞分化には RANKL シグナルを介した c-Fos の転写活性、ミトコンドリア生合成には PPAR- γ のコアクチベーターである PGC-1 β を介した 2 つの独立した下流のシグナル伝達経路が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。
また、喫煙が骨粗鬆症のリスクファクターであることは疫学的にはよく知られた事実であるが、そのメカニズムは十分に明らかにされていない。タバコの煙には発癌性物質が 100 種類以上含まれており、その中で最も強力な化学物質の一つが外因性 AhR リガンドとして知られている benzo[a]pyrene (B[a]P) である。喫煙によって生体内の AhR は活性化され、炎症関連病態である骨粗鬆症や関節リウマチ、変形性顎関節症 (TMJ-OA) との関連が示唆されている。Lee らはタバコ煙中に含まれる多環芳香族炭化水素、B[a]P をラットに投与し、このダイオキシン受容体アゴ

ニストが骨量と骨強度を著しく低下させることを報告した⁷⁾。こうした骨粗鬆症の誘発は、同じくダイオキシン受容体のアゴニストである 2, 3, 7, 8-TCDD によっても認められ、その効果はダイオキシン受容体のアンタゴニストとして知られるリスベラトールによって抑制される。これらの事実は、喫煙がダイオキシン受容体の活性化を介して骨粗鬆症を加速させる可能性を強く示唆する。また一方で、必須アミノ酸のトリプトファン代謝物である FICZ (6-formylindolo[3,2-b]carbazole) は高親和性の内因性 AhR リガンドとして知られており、FICZ による AhR の活性化が皮膚の炎症を減弱し皮膚のターンオーバーに関与することが報告されている⁸⁾。

In vitro においてマウス骨髄より培養した前破骨細胞にタバコの煙成分である B[a]P による刺激を行ったところ AhR/c-Fos シグナル伝達経路が破骨細胞分化調節に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、*AhR*^{-/-}マウスでは、骨折の病的状況下において仮骨部への破骨細胞の集積が少なく、その結果、化骨部のリモデリング不全により骨折治癒が遅延することを見出した。次にタバコの煙成分である B[a]P を介した破骨細胞への影響解明を行うため、WT マウス及び *AhR*^{-/-}マウスに B[a]P を経口投与させ、下顎頭関節下骨部及び破骨細胞への影響を比較検討した。その結果、WT マウス B[a]P 経口投与群ではマイクロ CT による解析より著明な骨密度、骨梁幅、骨梁間隔の増大を認めた一方で、*AhR*^{-/-}マウスにおいては B[a]P 経口投与による影響がみられなかった。また、B[a]P 経口投与群 WT マウス及び *AhR*^{-/-}マウスにおける下顎頭部の TRAP 染色を実施したところ、WT マウス B[a]P 経口投与群では破骨細胞の著しい集積がみられたが、*AhR*^{-/-}マウスにおいては、下顎頭下骨部において B[a]P 経口投与による破骨細胞の活性の変動を認めなかった。さらに、AhR 標的遺伝子の一つである *Cyp1a1* (cytochrome P4501A1) の下顎頭部での発現解析を行ったところ、WT マウスにおいて著明な発現上昇を示した一方で、*AhR*^{-/-}マウスでは B[a]P 経口投与による *Cyp1a1* 発現の変化を認めなかった。B[a]P 刺激による破骨細胞形成能をサイトカイン RANKL および M-CSF 添加下での骨髄細胞の培養系において比較したところ、破骨細胞形成能の上昇、TRAP、Cathepsin K、Integrin β_3 、*Cyp1a1*、*Cyp1a2*、NFATc1、c-Fos などの各種破骨細胞マーカーの発現増加がみられた、一方で *AhR*^{-/-}マウスでは B[a]P による発現の変動を認めなかった。

次に、内因性 AhR リガンドとして知られている FICZ における下顎頭への影響を解明するために過開口による TMJ-OA モデルマウスを用いて FICZ low 群あるいは FICZ high 群の二つの異なる用量の FICZ を 1 週間に 2 回尾静脈注射を実施し、破骨細胞など骨吸収活性を指標として vehicle 投与群と比較検討した。TMJ-OA モデルマウスの下顎頭をマイクロ CT 解析によって形態学的に解析した結果、下顎頭表面のびらんや骨密度、骨梁幅、骨梁間隔などの骨量の指標は FICZ high 群において無処置群と同程度にまで回復傾向を示した。組織学的解析においては TMJ-OA モデルマウス下顎頭の過剰な TRAP 陽性破骨細胞の集積、TUNEL 陽性アポトーシス細胞やアポトーシス実行因子である Caspase 3 分断化の割合は FICZ の投与用量依存的に減少傾向がみられた。また、FICZ high 群においてサフラニン O 染色により下顎頭軟骨プロテオグリカン層の回復を認めた。TMJ-OA モデルマウス下顎頭では AhR の標的遺伝子 *Cyp1a1* の発現上昇を認めたものの、FICZ 投与により有意に *Cyp1a1* の発現低下がみられた。さらに *in vitro* においても FICZ 添加により濃度依存的に TRAP 陽性破骨細胞形成能、および破骨細胞において *Cyp1a1* 発現の低下を認めた。

以上のことから、AhR リガンドである B[a]P および FICZ は RANKL/c-Fos/*Cyp1a1* 伝達経路を介して破骨細胞分化や骨吸収において重要な役割を果たし、TMJ-OA を含めた AhR 関連の炎症性骨代謝疾患における治療標的となることが示唆され、論文として研究成果をとめることができた⁹⁾。また、本研究成果はカナダのバンクーバーで開催された米国骨代謝学会 (2023 年 10 月) 及びアメリカ合衆国ヒューストンで開催された gordon research conference (2024 年 1 月~2 月) において成果の発表をそれぞれ現地へ赴き行った。さらに、カンファレンス後にワシントン大学に滞在 (2024 年 2 月) し、破骨細胞を用いたバイオフィーマティクス解析の手技を Zou Wei 准教授より習得した。

(4) BMM を RANKL (100 ng/ml) と M-CSF (50 ng/ml) で刺激し、刺激後 48 時間で mRNA レベルにおいて、IGFBP の著しい発現上昇がみられた。さらに初期の分化マーカー NFATc1 と発現パターンが類似していることが明らかとなった。次に IGFBP 遺伝子を野生型マウスのマウス破骨細胞に過剰発現させたところ、破骨細胞形成の著しい亢進を認めた。またアクチンリングの結果も同様に破骨細胞機能の亢進がみられ、ピットアッセイの結果より骨吸収エリアの亢進、CTx-ELISA より骨吸収の有意な増加を認めた。一方で IGFBP のノックダウンによってコントロールと比較し TRAP 陽性破骨細胞数の低下が認められた。さらに、qPCR による解析を実施した結果、IGFBP ノックダウンによって各種破骨細胞マーカーである NFATc1、Cathepsin K、TRAP、Calcitonin Receptor、integrin β_3 などの発現低下が認められた。つぎに、IGFBP ノックダウン BMM を RANKL と M-CSF とで培養を行い、ウエスタンブロット法により各種破骨細胞マーカーの解析を実施したところ、NFATc1、Integrin β_3 、c-Src、Cathepsin K の蛋白レベルでの発現低下がみられた。一方で、RANK やアダプター蛋白 TRAF6 の発現に変化を認めなかった。また、ミトコンドリアマーカー分画である CIII、CIV-MTCO1 は IGFBP ノックダウンにおいては発現の低下がみられ、CII-SDHB や CI の発現パターンはコントロールと比較し、変化はみられなかった。また IGF binding ドメイン、Thyroglobulin type-1 ドメインについてのコンストラクトの過剰発現による IGFBP ノックアウトマウス由来骨髄マクロファージへのレスキュー実験では IGFBP フルレングスの強制発現では破骨細胞形成のレ

スキューを認めたものの、各ドメインの欠失体では破骨細胞形成能の回復は認められなかった。次に *in vivo* に関して野生型マウス頸骨の骨折モデルに対する IGFBP ノックアウトマウスとの治癒の比較を行ったところ、IGFBP ノックアウトマウスでは μ CT 解析によって骨折治癒遅延、サフラニン O 染色では軟骨仮骨の残存、TRAP 染色では骨折部における破骨細胞集積の低下が認められた。

破骨細胞への分化・活性化の過程で IGFBP が極めて重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに初期の分化マーカー NFATc1 と発現パターンが類似していることから IGFBP は NFATc1 とほぼ同期した比較的初期の分化ステージにおいて重要な役割を果たしていると考えられる。

IGFBP ノックアウトマウス由来骨髄マクロファージへのレスキュー実験においては、IGF binding ドメインおよび Thyrogloblin type-1 ドメインともに破骨細胞分化において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

これらのことから、RANKL 刺激による IGFBP を介した経路が破骨細胞分化の NFATc1 とほぼ同期した比較的初期の分化ステージにおいて重要な役割を果たし、骨折治癒において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。現在、投稿準備中である。また、本研究成果についてもカナダのバンクーバーで開催された米国骨代謝学会(2023年10月)において成果の発表を行い世界中の骨代謝の研究者と有意義なデータの討論を行うことができた。

(5) 2020年度より国際共同を遂行するにあたって米国ワシントン大学医学部の Steven L. Teitelbaum 教授とは現在も本国際共同研究のための打ち合わせをメール会議など定期的に行っている。破骨細胞におけるシングルセル解析や細胞系譜解析などエピジェネティクス研究の手法について引き続き Wei Zou 准教授からオンラインやメール会議などで指導を受けている。Steven L. Teitelbaum 教授と本国際共同研究の成果やデータについて議論を重ね、現在投稿に向けて論文を推敲中である。Covid-19の感染拡大により、当初予定していた現地へ赴いての共同研究は制限されたが、米国骨代謝学会には積極的に情報収集のためオンラインで参加した(ASBMR2021 Annual Meeting 2021年10月1日-10月4日まで開催)。また、オミクロン株の流行もあり渡米は困難であったため、Steven L. Teitelbaum 教授、Wei Zou 准教授のご厚意によりワシントン大学医学部骨代謝研究部門開催のオンラインセミナーを定期的に参加することができ、最新の研究の情報を収集することができた。

<引用文献>

- 1) **Izawa T.** et al: ASXL2 Regulates Glucose, Lipid, and Skeletal Homeostasis. *Cell Reports* 11:1625-37, 2015
- 2) Farber C et al: Mouse genome-wide association and systems genetics identify Asxl2 as a regulator of bone mineral density and osteoclastogenesis. *PLoS Genet* 7: e1002038, 2011.
- 3) **Izawa T.** et al: The nuclear receptor AhR controls bone homeostasis by regulating osteoclast differentiation via the RANK/c-Fos signaling axis. *J Immunol* 197:4639-50, 2016.
- 4) Bikle D. et al: Insulin Like Growth Factor-I: A Critical Mediator of the Skeletal Response to Parathyroid Hormone. *Curr Mol Pharmacol* 5:135-42, 2012.
- 5) Maes C. et al: Placental growth factor mediates mesenchymal cell development, cartilage turnover, and bone remodeling during fracture repair. *J Clin Invest* 116:1230-42. 2006.
- 6) Zow W, **Izawa T** et al: ThPOK inhibits osteoclast formation via NFATc1 transcription and function. *JBMR Plus* 6: e10613, 2022.
- 7) Lee LL. et al: Polycyclic aromatic hydrocarbons present in cigarette smoke cause bone loss in an ovariectomized rat model. *Bone* 30:917-923, 2002.
- 8) Meglio PD. et al: Activation of the aryl hydrocarbon receptor dampens the severity of inflammatory skin conditions. *Immunity* 40:989-1001, 2014.
- 9) Yoshikawa Y. **Izawa T.** et al: Roles for B[a]P and FICZ in subchondral bone metabolism and experimental temporomandibular joint osteoarthritis via the AhR/Cyp1a1 signaling axis. *Sci Rep* 11:14927, 2021.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Habumugisha Janvier, Nakamura Masahiro, Kono Kana, Uchida Kenta, Konko Megumi, Izawa Takashi, Kamioka Hiroshi	4. 巻 27
2. 論文標題 Novel prediction models for pharyngeal airway volume based on the cranial base and midsagittal cross sectional area of the airway in the pharyngeal region: A cephalometric and magnetic resonance imaging study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Orthodontics & Craniofacial Research	6. 最初と最後の頁 394 ~ 402
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ocr.12735	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 吉川友理, 井澤 俊, 浜田勇作, 小崎剛志, 難波裕生, 上岡 寛	4. 巻 33
2. 論文標題 アリルハイドロカーボン受容体を介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本骨形態計測学会	6. 最初と最後の頁 46-47
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 無
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 浜田勇作, 井澤 俊, 吉川友理, 小崎剛志, 上岡 寛	4. 巻 33
2. 論文標題 IGFBPシグナルを介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 日本骨形態計測学会	6. 最初と最後の頁 48-49
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 無
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 Zou Wei, Izawa Takashi, Rohatgi Nidhi, Zou Steven Y, Li Yongjia, Teitelbaum Steven L	4. 巻 6
2. 論文標題 ThPOK inhibits osteoclast formation via NFATc1 transcription and function	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JBMR Plus	6. 最初と最後の頁 e10613
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbm4.10613	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 Hutami Islamy Rahma, Izawa Takashi, Khurel Ochir Tsendsuren, Sakamaki Takuma, Iwasa Akihiko, Tomita Shuhei, Tanaka Eiji	4. 巻 28
2. 論文標題 HIF-1 controls palatal wound healing by regulating macrophage motility via S1P/S1P1 signaling axis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oral Diseases	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1169
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.13856	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 井澤 俊, 吉川 友理, 浜田勇作, 上岡 寛	4. 巻 41
2. 論文標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドBaPはCyp1a1シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 日本骨形態計測学会雑誌	6. 最初と最後の頁 78-79
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 無
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 Yoshikawa Yuri, Izawa Takashi, Hamada Yusaku, Takenaga Hiroko, Wang Ziyi, Ishimaru Naozumi, Kamioka Hiroshi	4. 巻 11
2. 論文標題 Roles for B[a]P and FICZ in subchondral bone metabolism and experimental temporomandibular joint osteoarthritis via the AhR/Cyp1a1 signaling axis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14927
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-94470-4	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 Hutami Islamy Rahma, Izawa Takashi, Khurel-Ochir Tsendsuren, Sakamaki Takuma, Iwasa Akihiko, Tanaka Eiji	4. 巻 22
2. 論文標題 Macrophage motility in wound healing is regulated by HIF-1 via S1P signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8992 ~ 8992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22168992	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 Khurel Ochir Tsendsuren, Izawa Takashi, Iwasa Akihiko, Kano Fumiya, Yamamoto Akihito, Tanaka Eiji	4. 巻 7
2. 論文標題 The immunoregulatory role of p21 in the development of the temporomandibular joint osteoarthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dental Research	6. 最初と最後の頁 313 ~ 322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cre2.404	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 Weng Yao, Wang Ziyi, Fukuhara Yoko, Tanai Airi, Ikegame Mika, Yamada Daisuke, Takarada Takeshi, Izawa Takashi, Hayano Satoru, Yoshida Kaya, Kamioka Hiroshi, Okamura Hirohiko	4. 巻 47
2. 論文標題 0 GlcNAcylation drives calcium signaling toward osteoblast differentiation: A bioinformatics oriented study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioFactors	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/biof.1774	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 河野加奈、柳田剛志、井澤俊、上岡寛	4. 巻 40
2. 論文標題 下垂体機能低下を伴う中隔視神経異形成症患者の矯正歯科治療症例	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 岡山歯学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1-10
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 Wang Z, Weng Y, Ishihara Y, Odagaki N, Hsu Hlaing E, Izawa T, Okamura H, Kamioka H.	4. 巻 8
2. 論文標題 Loading history changes the morphology and compressive force-induced expression of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoprotegerin in MLO-Y4 osteocytes.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peer J	6. 最初と最後の頁 e10244
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7717/peerj.10244	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 Hutami Islamy Rahma, Tanaka Eiji, Izawa Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Crosstalk between Fas and S1P1 signaling via NF-κB in osteoclasts controls bone destruction in the TMJ due to rheumatoid arthritis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Dental Science Review	6. 最初と最後の頁 12~19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdsr.2018.09.004	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 Mori Hiroki, Izawa Takashi, Mori Hitoshi, Watanabe Keiichiro, Kanno Takahiro, Tanaka Eiji	4. 巻 15
2. 論文標題 Skeletal open bite with amelogenesis imperfecta treated with compression osteogenesis: a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Head & Face Medicine	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) 10.1186/s13005-019-0187-7	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 谷本 幸多朗、橋本 一郎、田中 栄二、森 浩喜、木内 奈央、井澤 俊、泰江 章博、堀内 信也、峯田 一秀、石田 創土、岩本 勉	4. 巻 44
2. 論文標題 徳島大学病院矯正歯科における過去10年間の口唇裂・口蓋裂患者に関する実態調査	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本口蓋裂学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1~6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11224/cleftpalate.44.1	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 -

〔学会発表〕 計36件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Izawa T, Yoshikawa Y, Kozaki G, and Kamioka H
2. 発表標題 AhR ligands regulates subchondral bone remodeling via osteoclast differentiation
3. 学会等名 the Gordon Research Conference on Bones and Teeth (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 吉川友理、井澤 俊、上岡 寛
2. 発表標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドであるB[a]PおよびFICZはAhR/Cyp1a1シグナル伝達経路を介して破細胞分化および骨代謝を制御する
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浜田勇作、井澤 俊、吉川友理、小崎剛志、上岡 寛
2. 発表標題 IGF結合蛋白シグナルを介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 難波裕生、井澤 俊、石川崇典、久保田聡、上岡 寛
2. 発表標題 Urothelial cancer-associated 1(UCA1)長鎖非コードRNAが破骨細胞分化および機能へ与える影響
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井澤 俊
2. 発表標題 下顎頭骨吸収を制御するAhR/RANKLシグナルクロストークによる骨免疫ネットワークの解明
3. 学会等名 第82回日本矯正歯科学会学術大会 サテライトセミナー2(基礎)「骨代謝研究のフロンティア」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hamada Y, Izawa T, Yoshikawa Y, Kozaki G, Kamioka H
2. 発表標題 IGFBP regulates osteoclast differentiation.
3. 学会等名 American Society for Bone and Mineral Research 2023 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshikawa Y, Izawa T, Hamada Y, Namba Y, Kozaki G, Kamioka H
2. 発表標題 AhR ligands regulate subchondral bone remodeling via osteoclast differentiation.
3. 学会等名 American Society for Bone and Mineral Research 2023 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理, 井澤 俊, 浜田勇作, 上岡 寛
2. 発表標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドB[a]PおよびFICZはCyp1a1シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する
3. 学会等名 第65回歯科基礎医学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 難波裕生, 井澤 俊, 上岡 寛, 久保田聡
2. 発表標題 Urothelial cancer-associated 1 (UCA1)長鎖ノンコーディングRNAの破骨細胞分化・機能への影響
3. 学会等名 第41回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浜田勇作, 井澤 俊, 吉川友理, 小崎剛志, 上岡 寛
2. 発表標題 RANKLとIGFBPシグナルクロストークによる破骨細胞分化および骨代謝機構の解明
3. 学会等名 第41回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理, 井澤 俊, 浜田勇作, 小崎剛志, 難波裕生, 上岡 寛
2. 発表標題 アリルハイドロカーボン受容体を介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明
3. 学会等名 第43回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 難波裕生, 井澤 俊, 上岡 寛, 久保田聡
2. 発表標題 Urothelial cancer-associated 1 (UCA1)長鎖ノンコーディングRNAの破骨細胞分化・機能への影響
3. 学会等名 第43回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 浜田勇作, 井澤 俊, 吉川友理, 小崎剛志, 上岡 寛
2. 発表標題 IGFBPシグナルを介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明
3. 学会等名 第43回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理, 井澤 俊, 上岡 寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第8回日本骨免疫学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理, 井澤 俊, 上岡 寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第77回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理, 井澤 俊, 上岡 寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会冬期学術集会（ウィンタースクール）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井澤俊、浜田勇作、吉川友理、上岡寛
2. 発表標題 喫煙によるアリルヒドロカーボン受容体を介した口蓋粘膜創傷治癒破綻メカニズムの解明
3. 学会等名 第46回日本口蓋裂学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浜田勇作、井澤俊、吉川友理、上岡寛
2. 発表標題 RANKLとIGFBPシグナルクロストークによる破骨細胞分化および骨代謝機構の解明
3. 学会等名 第42回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、上岡寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浜田勇作、井澤俊、吉川友理、上岡寛
2. 発表標題 喫煙によるアリルヒドロカーボン受容体を介した口蓋粘膜創傷治癒破綻メカニズムの解明
3. 学会等名 第64回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、上岡寛
2. 発表標題 アリルヒドロカーボン受容体を介した破骨細胞分化および骨折治癒機構の解明
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 浜田勇作、井澤俊、吉川友理、上岡寛
2. 発表標題 喫煙によるアリルヒドロカーボン受容体を介した口蓋粘膜創傷治癒破綻メカニズムの解明
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会学術大会 & 第9回日韓ジョイントシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、上岡寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第7回日本骨免疫学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、竹永紘子、王紫儀、上岡寛
2. 発表標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドはCyp1a1シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する
3. 学会等名 第41回日本骨形態計測学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、竹永紘子、王紫儀、上岡寛
2. 発表標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドはCyp1a1シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する
3. 学会等名 第39回日本骨代謝学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、竹永紘子、王紫儀、上岡寛
2. 発表標題 内分泌攪乱物質AhRリガンドはCyp1a1シグナルを介して破骨細胞分化および骨代謝を制御する
3. 学会等名 第63回歯科基礎医学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川友理、井澤俊、浜田勇作、竹永紘子、王紫儀、上岡寛
2. 発表標題 内因性AhRリガンドFICZによるCyp1a1を介した破骨細胞分化および骨代謝調節機構の解析
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会学術大会&第5回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹永紘子、井澤俊、吉川友理、浜田勇作、王紫儀、上岡寛
2. 発表標題 喫煙によるAhRリガンドB[a]Pを介した破骨細胞分化および骨粗鬆症発症メカニズムの解析
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会学術大会&第5回国際会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井澤 俊, 吉川 友理, 石丸直澄, 上岡 寛
2. 発表標題 核内受容体AhRはRANK/c-Fosシグナル伝達経路を介して破骨細胞の分化を制御する
3. 学会等名 日本骨形態計測学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takashi Izawa, Yuri Yoshikawa, Naozumi Ishimaru, Hiroshi Kamioka
2. 発表標題 Crosstalk between cytokine RANKL and AhR signaling in osteoclasts controls bone homeostasis
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress (9th IOC) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井澤 俊
2. 発表標題 生体イメージングで捉えるRANKL/IGFシグナルを介した破骨細胞による乳がん遠隔転移骨破壊機構の解明
3. 学会等名 日本骨代謝学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井澤 俊 .
2. 発表標題 内分泌攪乱物質ダイオキシン受容体AhRによる骨代謝調節機構の解明 .
3. 学会等名 第38回分子病理学研究会 (口演発表)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井澤 俊 .
2. 発表標題 TGF-β/Smad3シグナルを介したTMJ-OAの病態解明 .
3. 学会等名 第32回日本顎関節学会 シンポジウム・ワークショップ・パネル (指名) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Khurel-Ochir T, Izawa T, Sakamaki T, Mori H, Iwasa A, Tanaka E.
2. 発表標題 p21 deficiency is susceptible to TMJ-Osteoarthritis with mechanical stress.
3. 学会等名 ASBMR 2019 annual meeting (ポスター発表) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Khurel-Ochir T, Izawa T, Sakamaki T, Mori H, Iwasa A, Tanaka E.
2. 発表標題 p21 deficiency is susceptible to TMJ-Osteoarthritis with mechanical stress.
3. 学会等名 第37回日本骨代謝学会学術集会 (ポスター発表)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Khurel-Ochir T, Izawa T, Sakamaki T, Mori H, Iwasa A, Tanaka E.
2. 発表標題 Immunoregulatory role of p21 on the development of osteoarthritis in the temporomandibular joint.
3. 学会等名 第78回日本矯正歯科学会学術集会 (ポスター発表)
4. 発表年 2019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			
米国	ワシントン大学			