

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03777

研究課題名(和文) 骨透明化技術の開発と神経-血管ネットワークに着目した骨代謝異常疾患の病態解明

研究課題名(英文) Development of optical bone clearing technique and elucidation of pathophysiology of bone metabolic disorders focusing on neural-vascular network

研究代表者

佐藤 信吾 (Sato, Shingo)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40462220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、筋骨格系組織の透明化技術や3次元イメージングといった最先端技術を駆使し、筋骨格系組織における神経-血管ネットワークの可視化に成功した。また、得られた3次元解析データをもとに、神経・血管の量を定量化する独自の手法も開発した。さらに、メカニカルストレスが筋骨格系の恒常性維持に与える影響を神経-血管ネットワークの視点から明らかにするとともに、様々な骨代謝異常疾患の病態解析に骨透明化技術を応用した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

不動性骨粗鬆症、閉経後骨粗鬆症、骨折、がんの骨転移などの筋骨格系疾患の病態解析に、研究代表者らが開発した骨透明化技術を応用し、これらの疾患における神経-血管ネットワークの病態生理学的意義を明らかにできれば、神経・血管系を標的とした筋骨格系疾患の新たな治療法の開発に繋がることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we succeeded in visualizing the neural-vascular network in musculoskeletal tissues by using cutting-edge technologies such as optical bone clearing technique and 3D imaging. We also developed an original method to quantify the amount of nerves or blood vessels based on the obtained 3D analysis data. Furthermore, we clarified the effect of mechanical stress on the maintenance of homeostasis of musculoskeletal tissues from the viewpoint of neural-vascular network, and applied our optical bone clearing technique to the pathological analysis of various bone metabolic disorders.

研究分野：整形外科

キーワード：整形外科 組織透明化技術 骨代謝 臓器間ネットワーク

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまで研究代表者らは骨と他臓器とのクロストークに着目し、交感神経系や神経ペプチドが骨代謝を制御していることを世界に先駆けて明らかにしてきた(佐藤・越智ら Nat Med 2007, Cell 2007, Nat Med 2012)。また、近年、感覚神経の骨内への投射が、骨量の維持や骨再生に重要である可能性も見出した(福田・越智ら Nature 2013)。さらに研究代表者らは、予備的な検討にて、加齢とともに骨内の神経・血管系の形成が著しく低下することや、メカニカルストレスの減少が筋骨格系の神経系の減少を誘導することなども見出している。これらの所見は、筋骨格系の恒常性維持には神経-血管ネットワークが重要である可能性を示唆するものであるが、骨や筋組織の神経-血管ネットワークに着目した研究は数少なく、筋骨格系組織における神経・血管系の病態生理的意義はいまだ十分明らかになっていない。

2. 研究の目的

研究代表者らは、筋骨格系の神経-血管ネットワークを3次元的に解析するために、透明化が最も困難と言われていた骨組織の透明化技術の開発を独自に進めてきた。そこで本研究では、この骨透明化技術を用いて、骨組織内の神経-血管ネットワークの詳細な3次元解析を行うとともに、骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞との相互作用を明らかにする。さらに得られた3次元解析データをもとに、神経・血管の量や分布を定量化する手法の構築も目指す。

また、メカニカルストレスや重力が筋骨格系の恒常性維持に与える影響を神経-血管ネットワークの視点から明らかにするとともに、様々な骨代謝異常疾患の病態解析に骨透明化技術を応用し、これらの疾患における神経-血管ネットワークの病態生理学的意義を明らかにすることで、神経・血管系を標的とした新規治療法の開発に繋げる。

3. 研究の方法

1) 骨透明化技術による骨の多様な細胞の3次元イメージングと神経-血管ネットワークの定量化

- a) 1細胞レベルでの解析が可能な骨透明化技術の開発
- b) 骨組織を構成する多様な細胞の3次元イメージングとその相互作用の解析
- c) 3次元解析データを用いた神経-血管ネットワークの定量化

2) メカニカルストレス・重力による神経-血管ネットワークを介した筋骨格系恒常性維持機構の解明

- a) メカニカルストレス減少モデルマウス(尾部懸垂後肢免荷マウス)の筋骨格系の3次元構造解析
- b) 人工過重力環境飼育マウスの筋骨格系の3次元構造解析

3) 骨透明化技術の骨代謝異常疾患の病態解析への応用

- a) 閉経後骨粗鬆症、b) 骨折治癒、c) がんの骨転移における神経-血管ネットワークの3次元構造解析と神経-血管ネットワークの病態生理学的意義の解明

4. 研究成果

1) 骨透明化技術を用いた3次元イメージングと神経-血管ネットワークの定量化

a) 骨透明化技術の開発とプロトコルの確立

従来の2次元的な骨構造解析では、骨内の神経・血管の正確な走行を把握することが困難であった。そこで3次元的な構造解析を行うために、骨組織の透明化技術の開発を独自に進め、質の高い骨内の神経・血管の可視化に成功した。

b) 骨組織を構成する多様な細胞の3次元イメージング

骨組織内の各種細胞が蛍光標識されたマウス（骨細胞：DMP1-Cre;H2B-eGFP マウス、血管内皮細胞：Flt-tdsRed マウス、神経細胞：Sox10-Venus マウス）の骨組織の透明化処理を行い、各種細胞の骨組織内における詳細な分布を明らかにした。

c) 3次元解析データを用いた神経-血管ネットワークの定量化

得られた3次元解析データをもとに、神経・血管の量を定量化する手法の開発を進め、独自の定量化法を確立した。

2)メカニカルストレス・重力による神経-血管ネットワークを介した筋骨格系恒常性維持機構の解明

a)メカニカルストレス減少モデルマウス(尾部懸垂後肢免荷マウス)の筋骨格系の3次元構造解析

神経・血管が蛍光標識されたマウスに尾部懸垂を施行し、後肢へのメカニカルストレスを減少させた。このマウスの後肢の骨組織および筋組織の透明化処理と3次元構造解析を行い、メカニカルストレスの減少が骨組織内の神経系の形成を低下させる可能性を明らかにした。

また、研究代表者らは、宇宙航空研究開発機構（JAXA）の平成29年度「きぼう」利用フィジビリティスタディテーマ募集に応募し、「国の戦略的研究募集区分」に採択されている。そこでJAXAと共同で、神経が蛍光標識されたマウスを宇宙ステーション「きぼう」で飼育することを計画し、宇宙実験に向けた準備を進めた。

b)人工過重力環境飼育マウスの筋骨格系の3次元構造解析

人工過重力環境飼育装置を使用し、神経が蛍光標識されたマウスを3G環境で飼育した。このマウスの骨組織の透明化処理と3次元構造解析を行い、メカニカルストレスの増加が筋骨格系における神経系の形成に与える影響を明らかにした。

3)骨透明化技術の骨代謝異常疾患の病態解析への応用

a)閉経後骨粗鬆症

神経が蛍光標識されたマウスに卵巣摘出術を施行し、経時的に骨透明化技術を用いた3次元構造解析を行うことで、閉経後骨粗鬆症の進行が筋骨格系における神経系の形成に与える影響を明らかにした。

b)骨折治癒

神経・血管が蛍光標識されたマウスの大腿骨もしくは脛骨に骨折を作成し、3次元構造解析を行うことで、骨折の治癒過程における神経・血管の分布の変化を観察した。

c)がんの骨転移

骨転移病変における神経・血管の分布やがん細胞との相互作用を明らかにするために、神経・血管が標識されたマウスに高転移能がん細胞株を移植し、形成された骨転移病変の解析を進めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Watanabe-Takano Haruko, Ochi Hiroki, Chiba Ayano, Matsuo Ayaka, Kanai Yugo, Fukuhara Shigetomo, Ito Naoki, Sako Keisuke, Miyazaki Takahiro, Tainaka Kazuki, Harada Ichiro, Sato Shingo, Sawada Yasuhiro, Minamino Naoto, Takeda Shu, Ueda Hiroki R., Yasoda Akihiro, Mochizuki Naoki	4. 巻 36
2. 論文標題 Mechanical load regulates bone growth via periosteal Osteocrin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 109380 ~ 109380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.109380	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 Aihemaiti Aidehamu, Yamamoto Naoki, Piao Jinying, Oyaizu Takuya, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Okawa Atsushi, Miyata Toshio, Tsuji Kunikazu, Ezura Yoichi, Asou Yoshinori	4. 巻 534
2. 論文標題 A novel PAI-1 inhibitor prevents ageing-related muscle fiber atrophy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 849 ~ 856
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.10.089	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 Kobayashi Yutaka, Tanaka Tomoyuki, Mulati Mieradilli, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Kaldis Philipp, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi, Inose Hiroyuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Cyclin-Dependent Kinase 1 Is Essential for Muscle Regeneration and Overload Muscle Fiber Hypertrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 564581
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.564581	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 Suehara Yoshiyuki, Kohsaka Shinji, Hayashi Takuo, Akaike Keisuke, Kurisaki-Arakawa Aiko, Sato Shingo, Kobayashi Eisuke, Mizuno Sho, Ueno Toshihide, Morii Takeshi, Okuma Tomotake, Kurihara Taisei, Hasegawa Nobuhiko, Sano Kei, Sasa Keita, Okubo Taketo, Kim Youngji, Mano Hiroyuki, Saito Tsuyoshi	4. 巻 479
2. 論文標題 Identification of a Novel MAN1A1-ROS1 Fusion Gene Through mRNA-based Screening for Tyrosine Kinase Gene Aberrations in a Patient with Leiomyosarcoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Orthopaedics & Related Research	6. 最初と最後の頁 838 ~ 852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/CORR.0000000000001548	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 Kaku Takumi, Oh Yoto, Sato Shingo, Koyanagi Hirotaka, Hirai Takashi, Yuasa Masato, Yoshii Toshitaka, Nakagawa Tsuyoshi, Miyake Satoshi, Okawa Atsushi	4. 巻 23
2. 論文標題 Incidence of atypical femoral fractures in the treatment of bone metastasis: An alert report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bone Oncology	6. 最初と最後の頁 100301 ~ 100301
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbo.2020.100301	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 Kawabata Atsuyuki, Hirai Takashi, Tohara Ryo, Yuasa Masato, Inose Hiroyuki, Koyanagi Hirotaka, Sato Shingo, Utagawa Kurando, Hashimoto Jun, Okawa Atsushi, Yoshii Toshitaka	4. 巻 99
2. 論文標題 Surgical stabilization of spinal metastasis in diffuse idiopathic skeletal hyperostosis ("Mets-on-DISH")	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medicine	6. 最初と最後の頁 e20397 ~ e20397
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000020397	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 佐藤信吾	4. 巻 10
2. 論文標題 ひとりじゃない、チームで行う骨転移診療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone Joint Nerve	6. 最初と最後の頁 397 ~ 403
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 Mulati Mieradili, Kobayashi Yutaka, Takahashi Akira, Numata Hoashi, Saito Masanori, Hiraoka Yuichi, Ochi Hiroki, Sato Shingo, Ezura Yoichi, Yuasa Masato, Hirai Takashi, Yoshii Toshitaka, Okawa Atsushi, Inose Hiroyuki	4. 巻 130
2. 論文標題 The long noncoding RNA Crnde regulates osteoblast proliferation through the Wnt/ -catenin signaling pathway in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bone	6. 最初と最後の頁 115076 ~ 115076
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bone.2019.115076	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 該当する

1. 著者名 Supakul Sopak, Yao Kenta, Ochi Hiroki, Shimada Tomohito, Hashimoto Kyoko, Sunamura Satoko, Mabuchi Yo, Tanaka Miwa, Akazawa Chihiro, Nakamura Takuro, Okawa Atsushi, Takeda Shu, Sato Shingo	4. 巻 20
2. 論文標題 Pericytes as a Source of Osteogenic Cells in Bone Fracture Healing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20051079	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 佐藤信吾	4. 巻 34
2. 論文標題 骨転移とマイクロRNA	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 28~32
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 佐藤信吾	4. 巻 70
2. 論文標題 ペリサイト(血管周皮細胞)は多分化能を有し骨折治癒に貢献する	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床雑誌整形外科	6. 最初と最後の頁 788
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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐藤信吾、秦宇英、歌川蔵人、越智広樹、大川淳
2. 発表標題 骨透明化技術の開発による骨内神経の3次元構造の可視化と除神経による骨恒常性変化の観察
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 佐藤信吾、秦宇英、歌川蔵人、越智広樹、砂村聡子、海野愛子、三宅智、大川淳
2. 発表標題 骨を透明にする技術の開発と宇宙実験への応用
3. 学会等名 第19回関東骨軟部腫瘍の基礎を語る会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shingo Sato, Hirotaka Koyanagi, Takashi Hirai, Masato Yuasa, Satoshi Miyake, Atsushi Okawa
2. 発表標題 Early diagnosis and early treatment for bone metastasis by in-hospital multi-disciplinary treatment approach
3. 学会等名 Asia Pacific Musculoskeletal Tumor Society (APMSTS) 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤信吾、酒井朋子、岡安健、野里洵子、入山哲次、高橋萌々子、岡梨津子、本松裕子、三宅智
2. 発表標題 多職種協働でがん口コモを防ぐ ～がん患者が最後まで「動ける」を目指した緩和ケアの実践～
3. 学会等名 緩和・支持・心のケア合同学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾
2. 発表標題 デノスマブが支える運動器の健康 ～直ちに骨を守る行動を！～
3. 学会等名 第60回関東整形災害外科学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、平井高志、吉井俊貴、小柳広高、阿江啓介、湯浅将人、三宅智、大川淳
2. 発表標題 TES施行後、隣接椎体の骨転移による歩行障害が出現し、その治療に難渋した症例
3. 学会等名 第53回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、小柳広高、平井高志、湯浅将人、酒井朋子、三宅智、大川淳
2. 発表標題 緩和ケアにおける整形外科医の意義を考える ～がん患者が最後まで「動ける」を目指した緩和ケアの実践～
3. 学会等名 第53回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、小柳広高、平井高志、湯浅将人、本橋正隆、大川淳
2. 発表標題 骨転移キャンサーボードで示すがん診療における整形外科医の存在意義
3. 学会等名 第69回東日本整形災害外科学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、橋本恭子、越智広樹、大川淳、三宅智
2. 発表標題 骨転移におけるがん細胞と骨の細胞とのコミュニケーション
3. 学会等名 第125回日本解剖学会総会・全国学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤信吾、荒井誠、越智広樹、砂村聡子、竹田秀、大川淳
2. 発表標題 骨細胞の長鎖ノンコーディングRNAによる骨代謝制御機構の解明
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤信吾、Supakul Sopak、八尾健太、越智広樹、橋本恭子、砂村聡子、竹田秀、大川淳
2. 発表標題 ペリサイト（血管周皮細胞）は多分化能を有し骨折治癒に貢献する
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

〔図書〕 計1件

1. 著者名 佐藤信吾（共同執筆）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 総合医学社	5. 総ページ数 535
3. 書名 チーム医療のためのがんロコモハンドブック	

〔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	越智 広樹 (Ochi Hiroki) (30582283)	国立障害者リハビリテーションセンター(研究所)・研究所 運動機能系障害研究部・研究員 (82404)	

	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
研究協力者	秦 宇英 (Shin Takaei)		
研究協力者	歌川 蔵人 (Utagawa Kurando)		
研究協力者	山田 紘理 (Yamada Hironori)		
研究協力者	砂村 聡子 (Sunamura Satoko)		
研究協力者	海野 愛子 (Unno Aiko)		

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