

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2009～2011

課題番号：21689040

研究課題名（和文）

加齢と骨代謝制御

研究課題名（英文）

Aging and Regulation of Bone Metabolism

研究代表者

宮本 健史 (MIYAMOTO TAKESHI)

慶應義塾大学医学部・総合医科学研究センター・特任准教授

研究者番号：70383768

研究成果の概要（和文）：転写抑制因子 B lymphocyte maturation protein 1 (Blimp1) および B cell lymphoma 6 (Bcl6) により、破骨細胞に特徴的な遺伝子群の発現が直接制御されることで、破骨細胞分化と骨の恒常性が制御されていることを見出した (J Exp Med 2010)。また、破骨細胞の細胞融合に必須の分子として新たに osteoclast stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP) を同定した (J Bone Miner Res in press)。

研究成果の概要（英文）：We identified that transcriptional repressors namely B lymphocyte maturation protein 1 (Blimp1) and B cell lymphoma 6 (Bcl6) critically regulate osteoclast differentiation and bone homeostasis (J Exp Med 2010). We also identified that osteoclast stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP) is required for osteoclast cell-cell fusion (J Bone Miner Res in press).

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	8,200,000	2,460,000	10,660,000
2010 年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2011 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
総計	18,800,000	5,640,000	24,440,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：骨・軟骨代謝学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 急速な高齢化社会の到来を受けて、骨粗鬆症の患者数は増加の一途をたどっており、その克服は喫緊の課題である。

(2) 骨粗鬆症の患者数は加齢により増大するが、加齢と骨粗鬆症の発症を分子的に結びつけた報告には乏しい。

## 2. 研究の目的

(1) 骨粗鬆症発症の大きな要因となる破骨細胞を制御する新たな分子機構を同定す

ること。

(2) 加齢モデルにおいて、骨粗鬆症発症機構を解明し、その制御を試みること。

## 3. 研究の方法

(1) 破骨細胞分化を制御する分子を同定するため、破骨細胞において網羅的なマイクロアレイ解析を行い、破骨細胞に特異的な分子を同定し、その機能解析を行う。

(2) ATM 欠損マウスや FoXo3a 欠損マウス、

SOD1 欠損マウスなどの早期老化モデルである遺伝子改変マウスや、卵巣摘除偽閉経モデルマウスを用いて、老化と関連した骨恒常性制御分子を同定する。

#### 4. 研究成果

(1) 破骨細胞とマクロファージに発現する分子を比較したマイクロアレイを実施し、破骨細胞分化に伴い、発現が減少する転写抑制因子として Bcl6 を同定した。

Bcl6 を過剰に発現させると破骨細胞分化が阻害されたことから、Bcl6 の発現抑制が破骨細胞分化に必須であることが示された。

Bcl6 欠損マウスは野生型マウスに比べて、破骨細胞の過剰な形成と有意な骨量減少を示した。

Bcl6 は破骨細胞に特徴的な遺伝子である NFATc1、Cathepsin K および DC-STAMP の転写調節領域に直接結合し、これらの分子の発現を負に制御することを見出した。

Bcl6 の発現を抑制する転写抑制因子として Blimp1 を同定した。

破骨細胞特異的な Blimp1 欠損マウス (Blimp1 cKO) は Bcl6 の発現上昇に伴う破骨細胞分化障害と骨量の増加を示した。

Blimp1 は Bcl6 の転写調節領域に直接結合し、Bcl6 の発現を負に制御した。

Blimp1 cKO と Bcl6 KO を交配しダブルノックアウトマウスを作製したところ、Blimp1cKO にみられた骨量増加はキャンセルされた。

破骨細胞に特異的な分子の 1 つとして OC-STAMP を同定した。

OC-STAMP 欠損マウスを作製したところ、破骨細胞の細胞融合が完全に阻害されていた。

OC-STAMP 欠損マウス由来の破骨細胞は単核ではあるものの、破骨細胞の分化マーカーは野生型マウス由来の破骨細胞と同等に発現しており、破骨細胞に特徴的なアクチンリングや波状縁といった細胞構造も形成していたことから、OC-STAMP は破骨細胞の分化ではなく細胞融合に特異的に機能することが示された。

OC-STAMP 欠損マウス由来の破骨細胞は DC-STAMP などの他の細胞融合制御分子の発現は正常であり、逆に DC-STAMP 欠損マウス由来の破骨細胞においても OC-STAMP の発現は正常であったことから、OC-STAMP と DC-STAMP は独立して破骨細胞の融合を制御することが明らかとなった。

OC-STAMP 欠損マウスの破骨細胞は骨吸収能が有意に低下していた。

OC-STAMP 欠損マウスにおける破骨細胞の細胞融合障害は、OC-STAMP の過剰発現により回復した。

OC-STAMP 欠損マウスでは異物巨細胞の

細胞融合も完全に阻害されていた。

(2) FoxO3a 欠損マウスでは、加齢に伴い骨量が野生型マウスより低下していた。

SOD1 欠損マウスでは、加齢に伴い骨量が野生型マウスより低下していた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 19 件)

Yoshida S, Iwasaki R, Kawana H, Miyauchi Y, Hoshi H, Miyamoto H, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Hao W, Kobayashi T, Sato Y, Miyamoto K, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Nakagawa T, Miyamoto T. PDGFBB promotes PDGFR positive cell migration into artificial bone in vivo. Biochem Biophys Res Commun. 査読有、in press (2012)

Niki Y, Takeuchi T, Nakayama M, Nagasawa H, Kurasawa T, Yamada H, Toyama Y, Miyamoto T. Clinical Significance of Cartilage Biomarkers for Monitoring Structural Joint Damage in Rheumatoid Arthritis Patients Treated with Anti-TNF Therapy. PLoS One. 査読有、in press (2012)

Hoshi H, Hao W, Fujita Y, Funayama A, Miyauchi Y, Hashimoto K, Miyamoto K, Iwasaki R, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto H, Yoshida S, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Kitagawa K, Nakayama KI, Kawamoto T, Sano M, Fukuda K, Ohsawa I, Ohta S, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Toyama Y, Miyamoto T. Aldehyde stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis. J Bone Miner Res. 査読有、in press (2012)

Miyamoto H, Suzuki T, Miyauchi Y, Iwasaki R, Kobayashi T, Sato Y, Miyamoto

K, Hoshi H, Hashimoto K, Yoshida S, Hao W, Mori T, Kanagawa H, Katsuyama E, Fujie A, Morioka H, Matsumoto M, Chiba K, Takeya M, Toyama Y and Miyamoto T. OC-STAMP and DC-STAMP cooperatively modulate cell-cell fusion to form osteoclasts and foreign body giant cells. *J Bone Miner Res*. 査読有、in press (2012)

Fujita K, Iwasaki M, Ochi H, Fukuda T, Ma C, Miyamoto T, Takitani K, Negishi Koga T, Sunamura S, Kodama T, Takayanagi H, Tamai H, Kato S, Arai H, Shinomiya K, Itoh H, Okawa A, Takeda S. Vitamin E decreases bone mass by stimulating osteoclast fusion. *Nat Med*. 査読有, 2012 Mar 4;18(4):589-594

Miyamoto K, Yoshida S, Kawasumi M, Hashimoto K, Kimura T, Sato Y, Kobayashi T, Miyauchi Y, Hoshi H, Iwasaki R, Miyamoto H, Hao W, Morioka H, Chiba K, Kobayashi T, Yasuda H, Penninger JM, Toyama Y, Suda T and Miyamoto T. Osteoclasts are dispensable for haematopoietic stem cell maintenance and mobilization. *J Exp Med*. 査読有 2011 Oct 24;208(11):2175-81.

Miyamoto T. Regulators of Osteoclast Differentiation and Cell-Cell Fusion. *Keio J Med*. 2011. December 60(4):101-105. 査読有

Mori T, Miyamoto T, Yoshida H, Asakawa M, Kawasumi M, Kobayashi T, Morioka H, Chiba K, Toyama Y, Yoshimura A. IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ -initiated IL-6-STAT3 pathway is critical in mediating inflammatory cytokines and RANKL expression in inflammatory arthritis. *Int Immunol*. 2011 Nov;23(11):701-12. 査読有

Miyauchi Y, Ninomiya K, Miyamoto H, Sakamoto A, Iwasaki R, Hoshi H, Miyamoto

K, Hao W, Yoshida S, Morioka H, Chiba K, Kato S, Tokuhisa T, Saitou M, Toyama Y, Suda T, Miyamoto T. The Blimp1-Bcl6 axis is critical to regulate osteoclast differentiation and bone homeostasis. *J Exp Med*. 査読有、vol. 207, No. 4, 2010, pp751-762.

Nagase Y, Iwasawa M, Akiyama T, Kadono Y, Nakamura M, Oshima Y, Yasui T, Matsumoto T, Hirose J, Nakamura H, Miyamoto T, Bouillet P, Nakamura K, Tanaka S. Anti-apoptotic Molecule Bcl-2 Regulates the Differentiation, Activation, and Survival of Both Osteoblasts and Osteoclasts. *J Biol Chem*. 査読有, 2009 Dec 25;284(52):36659-36669.

Sakai S, Takaishi H, Matsuzaki K, Kaneko H, Furukawa M, Miyauchi Y, Shiraishi A, Saito K, Tanaka A, Taniguchi T, Suda T, Miyamoto T, Toyama Y. 1- $\alpha$ , 25-dihydroxy vitamin D<sub>3</sub> inhibits osteoclastogenesis through IFN- $\beta$ -dependent NFATc1 suppression. *J Bone Miner Metab*. 2009;27(6):643-652. 査読有

Miyamoto K, Ninomiya K, Sonoda K, Miyauchi Y, Hoshi H, Iwasaki R, Miyamoto H, Yoshida S, Sato Y, Morioka H, Chiba K, Egarashi K, Suda T, Toyama Y, \*Miyamoto T. MCP-1 expressed by osteoclasts stimulates osteoclastogenesis in an autocrine/paracrine manner. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009 383:373-377. 査読有

[学会発表](計50件)

Miyamoto T et al. STAT3 is critical to promote inflammatory cytokines and RANKL expression in inflammatory arthritis. 1<sup>st</sup> Bio-Rheumatology International Congress November 13-16 2011, Hilton Bay Tokyo, Chiba

宮本健史、森智章、吉村昭彦、戸山芳昭、  
炎症と破骨細胞制御機構、第26回日本整形外科学会基礎学術集会、平成23年10月20-21日、前橋

宮本裕也、森岡秀夫、千葉一裕、戸山芳昭、宮本健史、OC-STAMPは破骨細胞、異物巨細胞の細胞融合に必須である、第26回日本整形外科学会基礎学術集会、平成23年10月20-21日、前橋

森智章、宮本健史、吉村昭彦、戸山芳昭、STAT3は関節リウマチ治療の新たな分子標的である、第26回日本整形外科学会基礎学術集会、平成23年10月20-21日、前橋

Miyamoto H, Morioka H, Chiba K, Toyama Y and Miyamoto T, OC-STAMP and DC-STAMP are both essential for cell-cell fusion in osteoclasts and foreign body giant cells, Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2011, September 16-20 2011, San Diego, California, USA

Mori T, Toyama Y, Yoshimura A, Miyamoto T, STAT3 is a novel target for treating bone resorption in Rheumatoid arthritis, Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research 2011, September 16-20 2011, San Diego, California, USA

森智章、宮本健史、吉村昭彦、戸山芳昭、STAT3は関節リウマチ治療の新たな分子標的である、第29回日本骨代謝学会学術集会 平成23年7月28-30日 大阪

宮内芳輝、戸山芳昭、宮本健史、転写抑制因子 Blimp1は骨代謝制御の分子標的である、第29回日本骨代謝学会学術集会 平成23年7月28-30日 大阪

星淡子、呉コウ、戸山芳昭、宮本健史、Aldh2 遺伝子変異はアセトアルデヒド及び酸化脂質の蓄積により骨芽細胞の分化抑制をきたす、第29回日本骨代謝学会学術集会 平成23年7月28-30日 大阪

宮本裕也、森岡秀夫、千葉一裕、戸山芳昭、宮本健史、OC-STAMPは破骨細胞、異物巨細胞の細胞融合に必須である、第29回日本骨代謝学会学術集会 平成23年7月28-30日 大阪

Miyamoto T. Regulation of osteoclast differentiation and cell-cell fusion. Korean Society of Bone Metabolism, May

27-29, 2011, Seoul, Korea

Miyamoto H, Morioka H, Chiba K, Toyama Y, Miyamoto T, The IRAK4 p38 signal is a differentiation switch for reciprocal formation of osteoclasts and foreign body giant cells, 2011 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society January 13-16, 2011 Long Beach, California, USA

宮本健史、転写抑制因子 Blimp1-Bcl6 axisによる破骨細胞分化および骨恒常性制御、第25回日本整形外科学会基礎学術集会、平成22年10月14-15日、京都

宮本裕也、宮本健史、森岡秀夫、千葉一裕、戸山芳昭、IRAK4 p38 シグナルは implant failure の治療に対する分子標的である、第25回日本整形外科学会基礎学術集会、平成22年10月14-15日、京都

宮本健史、細胞融合の新たな展開、第28回日本骨代謝学会学術集会、平成22年7月21-23、東京

宮本健史、RANKLによる新たな破骨細胞分化機構、第28回日本骨代謝学会学術集会、平成22年7月21-23、東京

宮本裕也、戸山芳昭、宮本健史、IRAK4 p38 シグナルは implant failure の治療に対する分子標的である、第28回日本骨代謝学会学術集会、平成22年7月21-23、東京

宮内芳輝、千葉一裕、戸山芳昭、宮本健史、Blimp1およびBcl6による破骨細胞分化制御、第28回日本骨代謝学会学術集会、平成22年7月21-23、東京

藤田浩二、岩崎牧子、古賀貴子、高柳広、龍谷公隆、玉井浩、新井洋由、宮本健史、伊藤裕、四宮謙一、竹田秀、ビタミンEは破骨細胞融合を促進し骨量減少を引き起こす、第28回日本骨代謝学会学術集会、平成22年7月21-23、東京

宮本健史、細胞融合を標的とした破骨細胞制御機構の解明：DC-STAMPによる破骨細胞制御、第54回日本リウマチ学会、平成22年4月22-25日、兵庫

21 宮本健史、破骨細胞分化を制御する新規因子、第8回"Japan Conference on Bone & Joint Diseases"研究会 平成22年1月23日、東京

[図書](計2件)

Miyamoto T and Suda T. Molecules regulating macrophage fusions. Cell Fusions: Regulation and Control. 233-248, 2010

Sadaoki Sakai, Yoshiteru Miyauchi,  
Yoshiaki Toyama, Takeshi Miyamoto.  
Vitamin D: Biochemistry, Nutrition and  
Roles (Vitamin D and Bone). Vitamin D:  
Biochemistry, Nutrition and Roles, -  
3rd Quarter, 105 -128, 2010

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

宮本 健史（MIYAMOTO TAKESHI）  
慶應義塾大学・医学部・特任准教授  
研究者番号：70383768