

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 6月 4日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791364

研究課題名（和文） RANKLリバース・シグナル阻害による骨粗鬆症治療の可能性検証

研究課題名（英文） Evaluation of RANKL reverse signaling as therapeutic targets for osteoporosis.

研究代表者

本間 雅 (HONMA MASASHI)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60401072

研究成果の概要（和文）： 刺激依存的な RANKL 方向性輸送の足場として微小管が必要であり、刺激局所へ向かう微小管再構成に Rac1/Cdc42、IQGAP1、CLIP170 が関与する可能性を見出した。また、RANK ビーズ刺激に伴い mTORC2 が活性化し、刺激依存的 RANKL 移行過程に関与することを見出した。

研究成果の概要（英文）： Microtubules are necessary for RANKL translocation to the osteoblastic cell surface and Rac1/Cdc42-IQGAP1-CLIP170 are indicated to be involved in the reconstruction of microtubules towards the stimulated area. Moreover, mTORC2 is indicated to be activated in response to RANK stimulation and regulate Racc1/Cdc42 activation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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

Receptor Activator of NF- κ B (RANK) ligand (RANKL)は、骨芽細胞に発現するリガンド分子であり、生体における骨吸収レベルを最終的に決定する最も重要な因子である。このため、RANKL シグナル受容分子である RANK の下流伝達経路は精力的に研究されてきた。一方、シグナルの入力強度を決定する重要な要因であるにも関わらず、RANKL の細胞内挙動とその制御機構に関しては、これまで十分な研究が行われていなかった。申請者らは、この点に着目した分子論的研究(若手 B, 2008-2009 年度)を進めてきた結果、①骨芽細胞において、通常

RANKL の大部分は細胞内の分泌型リソソームに蓄積されており、細胞膜表面には僅かに発現しているのみであること、および②この細胞膜表面に局在する少量の RANKL は、破骨前駆細胞内にシグナルを入力するリガンド分子としてだけでなく、RANK との相互作用に伴って骨芽細胞内にリバース・シグナルを伝達するシグナル受容分子としても機能し、③このリバース・シグナルによって、分泌型リソソームからの RANKL 放出がトリガーされること、などを見出してきた (Kariya, Honma *et al. J Bone Miner Res* 2009)。またさらに、骨芽細胞に発現する RANKL のデコイ受容体 osteoprotegerin (OPG)は従来、細胞

外に分泌された後に細胞膜表面の RANKL と結合することでシグナル伝達を阻害していると考えられてきたが、④実は大部分の RANKL はゴルジ体でのタンパク質合成段階で既に OPG と相互作用しており、OPG と複合体を形成した RANKL が Class C Vps complex との相互作用を介して分泌型リソソームへの選別輸送を受けていること、および⑤この OPG による RANKL 選別輸送の調節機能は、デコイ受容体としての機能より大きく破骨細胞活性化抑制に寄与していること、なども明らかにしている(Aoki, Honma *et al. J Bone Miner Res* 2010)。これらの結果は、RANKL の細胞内局在の制御が生体における骨代謝調節に極めて重要な役割を果たしていることを示唆している。

2. 研究の目的

申請者らは上記背景に基づき、RANKL リバース・シグナルに関与する分子群が骨粗鬆症の新たな治療標的となり得る可能性を想定し、その分子実体の解明に向けた予検討を行った。RANK 刺激後の骨芽細胞中 mRNA 発現量変動を、ジーンチップを用いて網羅的に評価した結果、S6K1 など mechanistic target of rapamycin (mTOR) の下流で制御されることが知られている複数の遺伝子に関して発現上昇が観察され、mTOR の活性化が生じている可能性が示唆された。これらの背景を踏まえ、RANKL 直下から mTOR の活性化に至るまでの過程を中心に RANKL リバース・シグナル伝達に関与する分子群を同定し、生体レベルでの骨代謝に与える影響を解析することを目標に検討を行った。

3. 研究の方法

① 実験動物・細胞培養

全ての動物実験は、東京大学大学院医学系研究科動物実験委員会による承認のもと、動物実験計画書に基づき行った。C57/BL6 マウスは日本 SLC より購入した。OPG 遺伝子欠損マウスは御厚意により松本歯科大学総合歯科医学研究所より譲受した。

HeLa 細胞および ST2 細胞は理研細胞バンクより譲受、293FT 細胞は Invitrogen より購入し、定法に従って培養し、実験に用いた。

マウス初代培骨芽細胞は、既報に従って 1-3 日齢の雄マウスより単離培養し、検討に用いた (Biomaterials 2004 25(5): 757-68)。マウス骨髄細胞は、既報に従って 6-8 週齢の雄マウスより単離培養し、検討に用いた (Endocrinology 2003 144(11): 4999-5005)。

② 発現ベクターの構築と細胞導入

各種遺伝子は、それぞれマウス臓器より調製した cDNA を鋳型とした RT-PCR 法によりクローニングし、各種発現ベクターにサブ・クローニングした。また変異体の構築は、オーバーラップ PCR 法および QuickChange® (STRATAGENE) を用いた部位特異的変異導入法を用いた。

各種発現ベクターの細胞への導入に関しては、Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen) を用い、推奨プロトコールに従った。

③ 共焦点顕微鏡による細胞内局在の解析

UPLSAPO 100XO 対物レンズ(開口数:1.40、Olympus)を備えた共焦点顕微鏡 FV1000 (Olympus)を用い、生細胞及び固定した細胞の観察を行った。

④ 細胞膜表面ビオチン化アッセイ

細胞膜表面のタンパク質のみを回収する目的では、EZ-Link sulfo-NHS-SS-biotin (Pierce) を用い、推奨プロトコールに従って細胞表面タンパク質のビオチン標識を行った。その後細胞を NP-40 などの界面活性剤を用いて可溶化し、MagnaBind Streptavidin beads (Pierce) とインキュベーションすることでビオチン化されたタンパク質を回収し、その後の検討に用いた。

⑤ 共培養実験

ST2 細胞またはマウス初代培骨芽細胞に、必要に応じて予め発現ベクターの導入を行い、その翌日に細胞を剥がし、マウス骨髄細胞と混合して撒き、10 nM VD₃ 及び 100 nM Dex を添加した α -MEM 中にて共培養を行った。必要に応じて、各種阻害剤をメディアウム中に添加した。その後、培地交換を 3 日毎に行い、培養開始から 7 日後に、TRACP assay kit (Takara) を用いて、TRAP 酵素活性を測定し、成熟破骨細胞形成の指標として用いた。

⑥ PCR を用いた遺伝子発現量の定量

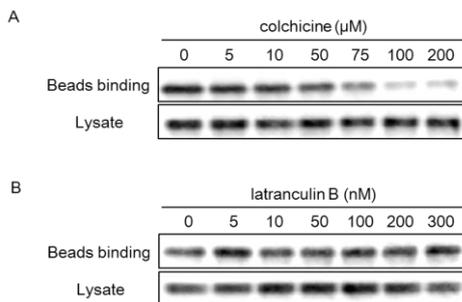
遺伝子発現量の定量は、SYBR GreenER qPCR SuperMix Universal (Invitrogen) によるリアルタイム PCR 反応を、CHROMO4 (BioRad) にて検出し、添付のソフトウェアにて解析することで行った。各々の遺伝子発現量は、 β -actin をリファレンスに用いて規格化した。

4. 研究成果

① 刺激依存的 RANKL 方向性輸送には微小管が関与する

RANKL リバース・シグナルによる RANKL 方向性輸送の制御機構を考える上でまず、方向性輸送の足場となる細胞骨格系は何かという点に着目した。一般的に、細胞内小胞輸送過程においては、微小管あるいはアクチン線維が輸送の足場として働くことが多く報告されている。そこで、マウス骨芽細胞系のモデル細胞である ST2 細胞を用い、RANK 刺激依存的な RANKL 分子の細胞表面への移行に対して、これら細胞骨格系の関与について検討を行った。破骨前駆細胞のモデルとして、直径 6-8 μ m のポリスチレンビーズの表面に RANK の細胞外ドメインを固相化したビーズ (RANK ビーズ) を用い、N 末端に GFP 標識した RANKL (GFP-RANKL) を、レンチウイルスを用いて予め導入した ST2 細胞に接触させると、リソソームに蓄積されていた GFP-RANKL が細胞表面へと移行し、RANK ビーズ接触面に集積する像が観察され、刺激依

存的な RANKL 分子の方向性輸送を評価する実験系として利用可能であることが、これまでの検討より明らかになっている。そこで、RANK ビーズとの接触面に集積し、RANK 細胞外ドメインと相互作用してビーズとともに回収される GFP-RANKL 分子の量を、刺激依存的な RANKL 細胞表面移行量の指標として評価することとした。細胞骨格系の関与は、チューブリンあるいはアクチンの重合阻害剤を用いて評価する事とした。その結果、微小管重合阻害剤 colchicine 処理群においては、colchicine の濃度依存的に RANKL 移行量が低下する傾向が観察されたが、一方でアクチン重合阻害剤 latrunculin B 処理群では、いずれの濃度においても RANKL 移行量の低下は認められなかった(下図)。



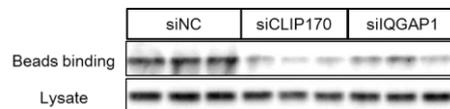
これらの結果から、微小管が RANKL 方向性輸送の足場として機能している可能性が示唆された。さらに、RANKビーズで刺激した際の ST2 細胞に対し、微小管およびアクチン繊維を特異的に染色し、共焦点顕微鏡を用いて観察を行った。その結果、微小管が RANK ビーズ接触面付近に集積している様子が観察され、RANK ビーズ刺激に伴ってビーズ周辺で微小管配向の再構成が生じている可能性が示唆された。阻害剤処理の結果と併せて、RANKL 方向性輸送の足場としては微小管が重要な役割を果たしていると考えられた。一方、アクチン線維についてはこのような集積は観察されず、阻害剤処理の結果と併せると、RANKL 方向性輸送へのアクチン線維の関与は低いものと考えられた。

② 微小管プラス端の捕捉・誘導に関わる一連のタンパク質 Rac1/Cdc42, IQGAP1 および CLIP170 が、刺激依存的 RANKL 方向性輸送に関与する

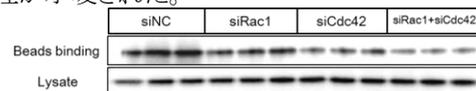
上述の検討より、RANKL が方向性を持って輸送されるメカニズムとして、足場である微小管が RANK ビーズ接触部位へ向けて配向性を持って再構成される可能性が考えられた。過去の細胞遊走に関する研究からは、遊走が生じる際に微小管が特定の細胞表層に向かって再構成されることが報告されており、その分子機構として、特定の細胞表層で低分子量 G タンパク質である Rac1 あるいは Cdc42 が活性化され、仲介タンパク質である IQGAP1 を細胞表層局所へとリクルートする。次いで、微小管プラス端結合タンパク質である CLIP170 と IQGAP1 との相互作用が起点となって微小管の捕捉・誘導が行われる、とい

う一連のスキームが提唱されている。そこで、同様の分子機構が RANKL 方向性輸送の際にも機能している可能性を想定し、ST2 細胞を用いて検討することとした。

Rac1/Cdc42, IQGAP1, CLIP170 の各分子に関して siRNA を用いて遺伝子発現を抑制した条件で刺激依存的 RANKL 移行量の評価を行うこととした。まず、各 siRNA を導入した際の mRNA レベルでの遺伝子発現抑制率を、定量的 PCR の手法を用いて測定し、いずれの場合においてもネガティブ・コントロールの siRNA (siNC) を導入した群に比べて、3 割以下に発現量が低下していることが確認された。また、タンパク質レベルでの発現量についてもイムノプロットを用いて検討し、発現量の抑制が生じていることを確認した。次いで、①と同様の実験系を用いて刺激依存的 RANKL 移行量の評価を行った。その結果、各遺伝子の発現抑制群ではコントロール群に比べて、刺激依存的 RANKL 移行量が低下する傾向が観察された(下図)。



これらの結果から、各分子が RANK 刺激依存的な RANKL 方向性輸送過程に関与している可能性が示唆された。Rac1 および Cdc42 は、代表的な Rho ファミリー低分子量 G タンパク質のメンバーであり、共にアクチン細胞骨格の制御に関与する分子としてよく研究されている。Rac1 の活性化は WAVE 複合体を介して葉状仮足の形成を引き起こすのに対し、Cdc42 の活性化は N-WASP を介して糸状仮足の形成を引き起こすなど、そのエフェクター分子や機能には違いが見られることも多く報告されている。一方で、微小管プラス端捕捉・誘導モデルにおいては、Rac1 および Cdc42 の間に機能的な違いは見出されておらず、RANKL 方向性輸送に関しても、Rac1 と Cdc42 が同様の機能を担っている可能性が想定された。そこで、Rac1 および Cdc42 単独の発現抑制に加えて、両遺伝子の同時発現抑制も行った結果、両遺伝子を発現抑制した群では単独発現抑制群に比べて更に RANKL 移行量が低下する傾向が観察され、Rac1 および Cdc42 両分子が RANK 刺激依存的 RANKL 移行過程においても、同様の機能を担っている可能性が示唆された。



③ Rac1/Cdc42 および IQGAP1 は RANK ビーズ接触部位周辺で集積・活性化している

上述のような微小管捕捉・誘導の分子機構が刺激依存的な RANKL 方向性輸送においても機能していると考えられるが、その場合 Rac1 および Cdc42 が RANK ビーズ接触部位周辺で局所的に活性化されること、またそれに伴い

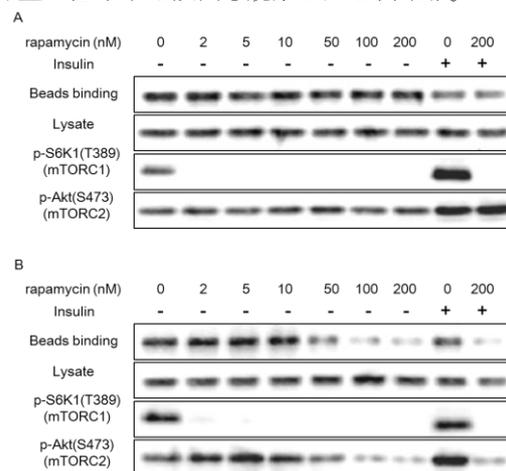
IQGAP1 が RANK ビーズ接触部位周辺に集積することが想定される。前半の点について検討するため、まず RANK ビーズ刺激に伴って Rac1 および Cdc42 の活性化が生じているかを確認した。GTP 結合型の活性型 Rac1 および Cdc42 分子と、その標的キナーゼである PAK1 の PBD との相互作用を利用して、Rac1/Cdc42 の活性化を検出する手法を用いて、RANK ビーズ刺激後の各分子の活性化を測定することとした。RANKL を導入した ST2 細胞に対して血清枯渴処理を 12 時間行い、その後 RANK ビーズ刺激を加え、3 時間後に細胞を可溶化して回収した。PAK1-PBD に結合して回収される Rac1/Cdc42 分子をイムノプロットによって検出した結果、両分子共に RANK ビーズ刺激に伴って活性化していることが確認された。次いで、Rac1/Cdc42 が細胞のどの部位において活性化しているかを明らかにするため、過去の報告を参考にして Rac1 および Cdc42 の細胞表面における活性化を検出できる FRET プローブを構築し、両分子の活性化を生細胞中で観察することとした。その結果、Rac1 および Cdc42 双方の FRET プローブ導入群において、RANK ビーズ接触部位における FRET 強度の上昇が観察された。これらの結果から、Rac1 および Cdc42 が RANK ビーズ接触部位周辺で局所的に活性化していることが示唆された。次いで後半の点について確認するため、N 末端に GFP 標識を付加した IQGAP1 (GFP-IQGAP1) を ST2 細胞に導入し、共焦点顕微鏡を用いた局在観察を行った。RANK ビーズを添加 3 時間後の時点で、RANK ビーズ接触部位周辺に GFP-IQGAP1 が集積している様子が確認された。

④ mTORC2 が Rac1/Cdc42 の活性を制御する上流シグナル分子である

ここまでの検討によって、RANK 刺激依存的な RANKL 分子の方向性輸送の足場形成においては、Rac1/Cdc42 の局所での活性化を介した、微小管の捕捉・誘導が機能していることが示唆された。そこで次に、低分子量 G タンパク質 Rac1 および Cdc42 の活性制御に関わる、上流シグナル分子の探索を試みた。種々のシグナル伝達阻害剤を用いて検討を進めた結果、mTOR キナーゼ活性の阻害剤である Torin1 で処理した際に、濃度依存的に RANKL 移行量が低下することが明らかとなった。

mTOR は多彩な細胞生理反応を制御するセリン・スレオニンキナーゼであり、Raptor を含む mTORC1 と Rictor を含む mTORC2 の 2 種類の複合体として機能することが知られている。mTORC1 はインスリンや増殖因子、アミノ酸シグナル、エネルギーレベル等に応答して DNA の転写・翻訳やオートファジーの制御を行っており、近年非常によく研究されている複合体である。一方、mTORC2 はアクチン細胞骨格系の制御を行うことが知られているが、その上流シグナルや活性化機構、直接の標的分子など、多くのこと

が未だ不明である。そこでまず、2 種類の mTOR 複合体について、刺激依存的 RANKL 移行への関与を検討した。mTORC1 選択的阻害剤である rapamycin は、短時間の処理では mTORC1 のみを阻害するが、高濃度・長時間処理では新規合成された mTOR 分子の複合体形成を阻害するため、mTORC1 のみならず mTORC2 も阻害することが知られている。そこで、ST2 細胞を rapamycin で 1 時間または 12 時間処理し、刺激依存的 RANKL 移行量の評価をこれまでと同様の実験系を用いて行った。その結果 1 時間処理群においては、mTORC1 活性の指標となる S6K1 の Thr389 のリン酸化 (p-S6K1 (T389)) は、rapamycin 低濃度による処理においてもほぼ完全に抑制される一方で、RANKL 移行量の低下は高濃度側においても認められなかった。なお、mTORC2 活性の指標である Akt の Ser473 のリン酸化 (p-Akt (S473)) は、同様に rapamycin 高濃度側においても抑制されないことが観察された。一方で 12 時間処理群においては、rapamycin の濃度依存的に Akt リン酸化の低下が観察され、mTORC2 活性の抑制が示唆されると共に、これと同期して刺激依存的 RANKL 移行量が低下する傾向も観察された (下図)。



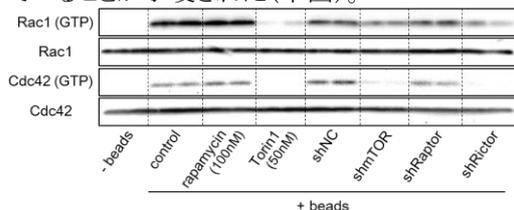
また、先述の mTOR キナーゼ阻害剤 Torin1 で処理した際には、mTORC1 および mTORC2 の活性双方が、Torin1 の濃度に依存的に阻害されることも確認された。これらの結果から、刺激依存的 RANKL 移行には、mTORC2 の活性化が関与する可能性が想定された。

さらに、RANK ビーズ刺激後の mTORC1 および mTORC2 の活性変動に関して検討を行った。mTORC1、mTORC2 活性化の指標としては先述と同様に、p-S6K1 (T389) および p-Akt (S473) を用いることとした。RANKL を導入した ST2 細胞に対し、12 時間の血清枯渴処理を行いバックグラウンドのシグナルを低減させた条件下で、RANK ビーズを添加し、その後経時的に細胞を回収してイムノプロットによる検出を行った。その結果、mTORC1 の活性化指標である p-S6K1 (T389) シグナルは経時的に増大する傾向が観察され、RANK ビーズ刺激に伴って

mTORC1 の活性化が生じていることが示唆された。一方で、mTORC2 の活性化指標である p-Akt(S473) に関しては、RANK ビーズ添加後 30 分までの一過性のシグナル上昇が観察され、RANK ビーズ刺激に伴う mTORC2 の活性が示唆されたが、そのシグナル強度は 60 分以降で低下していく傾向が観察された。この理由として、mTORC1 活性化に伴う Akt リン酸化へのフィードバック機構が関与する可能性が考えられた。以上一連の検討から、RANK 刺激に伴って mTORC2 の活性化が生じ RANKL 移行に関与する一方で、mTORC1 は刺激依存的 RANKL 移行には関与しないものの、同様に RANK 刺激に応答して活性化し、他の細胞内イベントに関与する可能性が示唆された。

⑤ mTORC2 は RANK ビーズ接触部位周辺に集積し、Rac1/Cdc42 を活性化する

次いで、刺激依存的な RANKL 細胞表面移行過程において、mTORC2 が Rac1 および Cdc42 の活性化を制御しているのかどうか検討を行った。先述の PAK1-PBD との相互作用を利用した検出系で、活性型 Rac1/Cdc42 の量をイムプロットにて検出した。その結果、Torin1 処理群においては、コントロール群と比較して RANK ビーズ刺激後の Rac1/Cdc42 の活性化が低下していることが確認された一方、rapamycin 短時間処理群では Rac1/Cdc42 活性化の低下は見られなかった。また、mTOR および Rictor に対する shRNA を、アデノウイルスを用いて導入し、各遺伝子の発現抑制をした場合にも、コントロール群と比較して、Rac1/Cdc42 の活性化が低下する傾向が確認された。これらの結果から、RANK 刺激依存的 RANKL 移行過程においては、mTORC2 が Rac1 および Cdc42 の活性化を制御していることが示唆された(下図)。



Rac1 および Cdc42 の活性化が RANK ビーズ接触部位周辺で局所的に生じることから、その活性を制御する mTORC2 は、同様にビーズ接触部位周辺で局所的に活性化する可能性が想定された。N 末端に GFP 標識を付加した Rictor を導入し、共焦点顕微鏡を用いてその局在を観察した。その結果、GFP-Rictor は細胞質全体に分布し、RANK ビーズ添加後には、ビーズ接触部位に集積する様子が観察された。

さらに、mTORC2 活性化を抑制することで微小管の再構成が抑制された場合、リソソーム輸送の足場が失われ、RANK ビーズ接触部位へのリソソームの集積が低下すると考えられる。この点を検証するために、Munc13-4 機能欠損マウスである Jinx マウス由来の初代培養骨芽細胞

(POB) を用いて検討することとした。これまでの検討から、刺激依存的 RANKL 移行過程において、リソソームの細胞膜への融合過程に低分子量 G タンパク質である Rab27a/Rab27b およびそのエフェクター分子である Slp4, Slp5, Munc13-4 が関与することが明らかとなっており、Jinx マウス由来の POB においては、リソソームと細胞膜の融合が抑制されるため、リソソームが RANK ビーズ接触部位周辺に集積する様子が観察される。この点に関し、GFP-RANKL を導入した Jinx POB において、mTORC2 阻害剤で処理した場合に、リソソームの集積度合いが減少するか否かを検討した。リソソームの可視化には蛍光標識した dextran を用いた。その結果、コントロール条件においては RANK ビーズ接触部位周辺へのリソソームの集積が観察されるのに対し、Torin1 で処理した群においては、リソソームの集積はほとんど生じないことが確認された。この結果は、mTORC2 の活性化によって RANKL 方向性輸送の足場である微小管の再構成が抑制され、その結果、刺激依存的 RANKL 移行が抑制されるという仮説を支持するものであった。

⑥ RANKL 方向性輸送を阻害することで、骨芽細胞の破骨細胞分化支持能は低下する

これまでの検討結果を踏まえ、最後に、本研究で明らかになってきた RANKL 方向性輸送の分子機構に関して、その生理的意義の検討を行った。ST2 細胞に siRNA を導入して CLIP170 を発現抑制し、この細胞をマウス骨髄細胞と共培養した後、破骨細胞形成活性を評価するため、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 活性を測定した。その結果、コントロール群と比較して、siCLIP170 導入群においては TRAP 活性が有意に低下していることが確認された。ただし、siRNA を導入して CLIP170 の発現を抑制した ST2 細胞は、コントロール群と比較して細胞の増殖が僅かに低下する傾向が観察され、この点が共培養後の TRAP 活性に影響を与える可能性も無視はできないと考えられ、今後の検討課題と考えている。

結論

本研究により、RANKL 方向性輸送が生じるメカニズムとして以下の分子機構が明らかとなった。すなわち、①RANK 刺激に伴って mTORC2 複合体が RANK 刺激部位近傍にリクルートされ、そこで活性化することによって、②RANK 刺激部位近傍における低分子量 G タンパク質 Rac1/Cdc42 の活性化が生じる。③活性化した Rac1/Cdc42 は、仲介タンパク質 IQGAP1 をリクルートし、④IQGAP1 が微小管プラス端結合タンパク質 CLIP170 との相互作用を介して微小管の捕捉・誘導を行うことで、⑤RANKL 輸送の足場となる微小管が RANK 刺激部位へ向かって再構成されるという一連の反応と考えられる。骨芽細胞と破骨細胞の細胞間接触を介したシグナル入力と、生体における破骨細胞形成・骨吸収活

性を厳密に調節するためには、RANKL を破骨前駆細胞との接触部位に向けて方向性を持って輸送する機構は非常に合理的であると考えられ、骨代謝バランスの維持に重要な役割を果たしていると推測されるが、本研究ではその制御機構の一端を明らかにすることができた。本研究で見出された RANKL 方向性輸送のメカニズムに関しては、種々の組織において多彩な生理機能を有するシグナル分子が多く、特異性の問題を考慮すると良好な創薬標的にはなりにくいと考えられる。有望な治療薬を創出するためには、できるだけ骨芽細胞における RANKL 局在制御機構のみに特異的な分子機構を創薬標的とすることが重要であると考えられ、刺激依存的 RANKL 移行を制御するシグナル伝達経路の全容を解明することが、今後有望な新規創薬標的の発見につながることを期待している。

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 1 件、査読有)

① Yoshiaki Kariya, Masashi Honma (equally 1st, corresponding), Akiko Hanamura, Shigeki Aoki, Tadashi Ninomiya, Yuko Nakamichi, Nobuyuki Udagawa, Hiroshi Suzuki Rab27a and Rab27b are involved in stimulation-dependent RANKL release from secretory lysosomes in osteoblastic cells. *Journal of Bone and Mineral Research* Vol.26 Issue 4, p.689-703, 2011

[学会発表] (計 5 件)

① 本間 雅 RANKL 骨芽細胞内挙動と RANKL 逆シグナル 第 14 回 骨発生・再生研究会 東京 2011 年 11 月 12 日

② Masashi Honma, Akiko Hanamura, Shigeki Aoki, Yoshiaki Kariya and Hiroshi Suzuki RANKL reverse signaling triggers RANKL translocation via mTORC2 activation 3rd Joint Meeting of the European Calcified Tissue Society & the International Bone and Mineral Society Athens, Greece 2011 年 5 月 10 日

③ 本間 雅 RANKL 細胞内トラフィックの新規治療標的としての可能性 第 84 回日本薬理学会年会 横浜 2011 年 3 月 24 日

④ 本間 雅 RANKL 細胞内トラフィックを制御する分子基盤 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会・全国学術集会・合同大会 横浜 2011 年 3 月 30 日

⑤ 本間 雅 RANKL 細胞内トラフィックの生理的意義 第 28 回日本骨代謝学会学術集会 東京 2010 年 7 月 22 日

6. 研究組織

(1)研究代表者

本間 雅 (HONMA MASASHI)

東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60401072

(2)研究分担者
該当なし

(3)連携研究者
該当なし