

## 骨形成メカニズムとしてのニッチの分子的解明と 治療への応用基盤の先端ナノサイエンス

Molecular Analyses of Osteoblastic Niche and  
its Application with the Development of Nano Science

野田 政樹 (Noda Masaki)  
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授



### 研究の概要

骨形成に必須と考えられる骨格系幹細胞の微小環境、ニッチについては、尚不明の点が多い。さらにこの幹細胞が分化して可能となる骨の形成に関わる骨芽細胞の制御においてはそのネットワークの解明は十分でなく、特に成熟骨芽細胞規定の因子に対する研究の進展が必要である。また全身性の骨の制御機構の中でこれまで示されてきたホルモンやサイトカインの制御に加え骨吸収と骨形成の双方を制御する神経系の支配の存在がこれまでの研究により示唆されているが、神経系による破骨細胞制御の骨への関与の機構はなお不明の点が多い。さらに、骨関節の再生医科学的な再構築を目指す治療の観点からは、細胞とともに骨形成促進因子などを有効かつ医療経済学的な観点からも適切に投与することを可能とする新たなデリバリーシステムの組織再生医工学的な開発が必要となっている。本研究ではこれらの点を検索する。

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

骨粗鬆症の治療においては、骨の吸収を抑制する薬剤の開発が行われたが、一方で骨量の底値になった状況の改善や阻害薬の使用できない場合、更にはこれらの薬剤に応答しないケースなど、骨の形成の必要性が高まっている。骨の形成に必須と考えられる骨格系の幹細胞の微小環境についてはなお不明な点が多く、また骨芽細胞の制御のメカニズムはその発生的な意義のみならず、成体におけるリモデリングの上での骨形成も含め解明が必要である。更に神経系と骨との関連や、骨量の回復または骨欠損の再構築の為の足場の研究と連携する統合的な骨形成の研究が必要となっている。

### 2. 研究の目的

現在の問題点を踏まえ、骨の形成のメカニズムとして幹細胞の存在と制御に関わる骨内の微小環境の分子レベルでの解明と成体の骨形成の制御機構を明らかにし、骨吸収をはじめとする神経系の制御の機転を解析すると共に、広範骨欠損の再構築の基盤となるナノサイエンスの基盤を形成することが目的である。

### 3. 研究の方法

骨芽細胞の幹細胞研究においては、組織としての骨髄環境やその構成成分である骨芽細胞をはじめとする間葉系細胞の分化のメカニズムを解析し、同時にまた新たな成体の骨形成の制御因子としての分子の探索を行う。分子機能の検討は、骨芽細胞をはじめとする間葉系細胞の細胞株及びこれらの制御因子を組み入れたトランスジェニックマウスやノックアウトマウスの解析によって *in vivo* の特に成体内の意義を明らかにすると共に、転写のレベル或いは蛋白レベル及びメッセンジャーレベルを含めた統合的な生命科学情報ベースに基づく解析を研究方法とする。

### 4. これまでの成果

第1の項目としては副甲状腺ホルモンシグナルの下に細胞外基質分子が骨の幹細胞のニッチを構成することを明らかにし、更に第2の項目である成熟した骨芽細胞の制御に関わる因子としては、*Anti proliferative gene* に属する新たな細胞内制御因子 ANA (*Abundant in Neuroepithelium Area*) の BMP の阻害因子としての役割を見出し、特に下流のシグナル因子の中で *Smad1* ならびに *Smad5* とは結合せず、特異的に *Smad8* とのみ結合して成体における異所性骨形成を阻害することを明らかにした。この *Smad8* と結合する BMP シグナルの阻害は、BMP レスポンスエレメントに結合するこ

#### [4. これまでの成果 (続き)]

とによって起こるルシフェラーゼアッセイを用いた転写レベルの制御に関する解析から ANA が BMP の働きを成熟骨芽細胞において転写レベルにおいて抑制することを明らかにした。この検討は siRNA ならびに強制発現で行われると共に、ノックアウトマウスにおける異所性骨化のモデルによる検証から異所性骨形成を特異的に抑止する過程を発見し、細胞制御レベルの検索を加え、成体内における骨形成に至るまでの特異的な経路の存在が見出された。

骨吸収の制御に関わる第3項目の検討からは、交感神経系の活性化によって生ずることを研究者らが明らかにした廃用性骨萎縮モデルから発展し、この廃用性骨萎縮のモデルの副甲状腺ホルモンの活性化型のシグナルを構成的に持つ成体の動物において、骨吸収系シグナルに向かう非荷重シグナルが逆転し、通常は骨吸収を促進する方向が骨吸収の非荷重による抑制に至ることを見出し、そのシグナルの解析からこの逆転が MCP1 ならびに M-CSF のサイトカイン発現の制御に基づくことを明らかにし、これらのサイトカインの逆転的な制御に基づく破骨細胞の新しい制御のメカニズムに PTH シグナルが関与することを見出した。

更に骨の再構築に関わる第4項目の研究の結果、BMP の単回投与によって通常では修復が不可能なレベルの大きな骨欠損に対し、新しいこれまでにない担体であるコレステロールプルランを用いたナノサイエンス材料が骨の修復に際し BMP を有効に徐放すること、また頭頂骨の如く扁平な骨の形成を大きな変形を伴うことなく、かつ神経に対する圧迫障害などを生ずることなく骨形を再構築することを見出している。

以上の研究の進展は、本基盤研究で提案した「骨形成メカニズムとしてのニッチの分子的解明と治療への応用基盤の先端ナノサイエンス」の研究を順調に進展させている事を示すものである。

#### 5. 今後の計画

骨芽細胞のニッチの検討では、副甲状腺ホルモン受容体シグナルの骨形成への多重制御の分子メカニズムを解析する。成熟骨芽細胞の機能制御の研究においては、BMP の成体内における骨形成促進機能の修飾メカニズムを明らかにし、これによって閉経後骨粗鬆症における骨量減少に対して、骨形成促進シグナルの持つ成体における骨量維持によってその減少を阻止する可能性を追求し、治療に向けた新たな分子基盤の構築を図る。また、骨吸収の主たる要因である破骨細胞の機能亢進のメカニズムの解明においては、交感神経系のシグナルの亢進に基づく破骨細胞の活性化をリンクさせる分子基盤を解明し、これによって骨吸収のカップリングを超えた過剰な吸収への傾きへの進展メカ

ニズムを解明する。更にナノサイエンスに基づく骨再構築の検討においては、現在自然治癒が困難な大型骨欠損に対し、骨再構築に向けたナノサイエンスに立脚する骨再構築の基盤研究を進展させる。これらの研究の推進により、骨形成に向けた新たな視点を確立するとともに、骨再構築を可能とする骨形成に基づく治療の基盤を確立する。

#### 6. これまでの発表論文等

・原著論文計 37 件

- ①Miyai K, Yoneda M, Hasegawa U, Toida S, Izu Y, Hemmi H, Hayata T, Ezura Y, Mizutani S, Miyazono K, Akiyoshi K, Yamamoto T, **Noda M**. ANA deficiency enhances BMP-induced ectopic bone formation via transcriptional events. *Journal of Biological Chemistry* 2009 in press 査読有
- ②Izu Y, Mizoguchi F, Kawamata A, Hayata T, Nakamoto T, Nakashima K, Inagami T, Ezura Y, **Noda M** Angiotensin II type 2 receptor blockade increases bone mass. *Journal of Biological Chemistry* 284:4857-64; 2009 査読有
- ③Ono N, Nakashima K, Rittling SR, Schipani E, Hayata T, Ezura Y, Soma K, Denhardt DT, Kronenberg HM, **Noda M** Osteopontin Negatively Regulates parathyroid hormone receptor signaling in osteoblasts *Journal of Biological Chemistry* 283:19400-19409, 2008 査読有
- ④Ono N, Nakashima K, Schipani E, Hayata T, Ezura Y, Soma K, Kronenberg HM, **Noda M** Constitutively active parathyroid hormone receptor signaling in cells in osteoblastic lineage suppresses mechanical unloading-induced bone resorption. *Journal of Biological Chemistry* 282:25509-16, 2007 査読有
- ⑤Saita Y, Takagi T, Kitahara K, Usui M, Ezura Y, Nakashima K, Kurosawa H, Ishii S, **Noda M** Lack of schnurri-2 expression associates with reduced bone remodeling and osteopenia. *Journal of Biological Chemistry* 282:12907-15, 2007 査読有

・学会発表 計 61 件(海外 30 件国内 31 件)

・産業財産権

○出願状況 (計 1 件)

名称: 骨形成促進物質とナノゲルを含有する骨形成用生体材料

国際出願番号: PCT/JP2007/50555

代表者: 秋吉一成、野田政樹

○取得状況 (計 1 件)

名称: 抗オステオポンチン抗体及びその用途/ ANTI-OSTEOPONTIN AND USE THEREOF

国際出願番号: PCT/JP02/0338

ホームページ等

<http://www.tmd.ac.jp/mri/mph/indexmph.html>