

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出
2. 研究開発課題名： 骨を基軸とする代謝ネットワークの解明
3. 研究開発代表者： 竹田 秀（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科細胞生理学分野）
4. 研究開発の成果

## (1) 「竹田」グループ

① 骨代謝の恒常性維持におけるセマフォリン(Sema)シグナルの意義の解明：我々は、神経特異的 Sema 欠損マウスの解析により、感覚神経系が骨量維持に重要な機能を有することを明らかにした。Sema のシグナル系には受容体である Neuropilin (Npn)が重要な役割を果たすことから、神経特異的 Nrp1 欠損マウスの作成および骨組織の解析を行った。一方、概日リズムによる骨代謝調節にも着目し、破骨細胞における時計遺伝子 Bmal1 が骨吸収を制御していることを明らかにし、本研究成果を報告した(J Bone Miner Res, 2016)。

② 骨にかかるストレス感知—感覚神経、交感神経および血管系のネットワーク—：骨はメカニカルストレスを感知する臓器であるが、その機構は未解明のままである。そこで、マウス尾部懸垂モデルを用い、感覚神経系とメカニカルストレスの関連を検討した。また、神経—血管系の相互依存性と骨代謝の関係性を検討するために、共焦点レーザー顕微鏡を使用して、神経系および血管系が蛍光ラベルされたマウスの骨組織での神経・血管走行の微細構造を詳細に解析した。さらに、神経—血管—骨代謝の関係性を三次元的に解析するために、近年開発された組織透明化技術を改良して、骨組織内の血管の可視化に成功した。

③ ヒトの骨粗鬆症における神経系の病態生理的意義の解明：ヒトの骨粗鬆症の病態における感覚神経系の意義については不明である。そこで、骨粗鬆症による大腿骨近位部骨折を発症した患者の骨サンプルの収集に努めると共に、免疫組織化学的解析系の確立を行った。

④ 骨における感覚神経情報伝達機構の解明：我々は感覚神経系が骨量維持に重要であることを見出しているが、そのメカニズムは不明である。そこで、マウス胎児から後根神経節 (DRG) を単離し培養する技術を確立するとともに、DRG と骨芽細胞を共培養できるシステムを確立した。また、感覚神経から骨芽細胞へのシグナル伝達を *in vivo* で検討するために、生きたマウスの DRG に直接、神経トレーサーやウイルスを投与できる技術の確立に成功した。

⑤ 骨による成長ホルモン分泌調節の分子基盤の解明：我々は、破骨細胞特異的に欠損させると成長障害を示す遺伝子をすでに同定している。この遺伝子を破骨細胞特異的に欠損させたマウスの骨代謝動態の解析を進めるとともに、このマウスの破骨細胞から RNA を抽出し、次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子発現解析を実施した。

⑥ ビタミン D によるエネルギー代謝調節機構の解明：これまで我々は、肥満マウスモデルにおいて、ビタミン D を投与することで血清 Ca 濃度非依存的に体重増加が抑制されること、また、ビタミン D の脳室内投与により、エネルギー消費量が増加することを見出している。そこで、脂肪特異的ビタミン D 受容体(VDR) 欠損マウスおよび神経特異的 VDR 欠損マウスを作成し、これらのマウスのエネルギー代謝動態を解析した。

## (2) 「山中」グループ

① 骨における神経系の情報伝達機構の解明 —光遺伝学を用いた解析—

中枢から骨および骨から中枢へのシグナル伝達機構の詳細は不明である。光刺激で感覚神経を活性化させるために、感覚神経特異的にチャネルロドプシン 2 (Ch2) の発現を誘導できるアデノ随伴ウイルス (AAV) を作製した。また、GFP 発現順行性単純ヘルペスウイルスおよび逆行性偽狂犬病ウイルスを用いた神経トレース実験を行った。