

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「メカノバイオロジー機構の
解明による革新的医療機器及び医療技術の創出」研究開発領域
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,
- 研究開発課題名：(日本語) 骨恒常性を司る骨細胞のメカノ・カスケードの解明
(英語) Elucidation of mechano-cascade by osteocyte for bone homeostasis
- 研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学
教授 中島 友紀
- 所属 役職 氏名：(英語) Department of Cell Signaling, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University, Professor, Tomoki Nakashima
- 実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 骨メカノ・カスケードの実証解析: 分子生物学アプローチ・アーム
開発課題名：(英語) Analysis of osteomechano-cascade: Molecular biology approach-arm
- 研究開発分担者 (日本語) 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所
教授 安達 泰治
- 所属 役職 氏名：(英語) Kyoto University, Institute for Frontier Life and Medical Science,
Professor, Taiji Adachi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

運動をすると骨は丈夫になり、寝たきりになると骨が弱くなることを人類は経験的に理解している。力学的環境の変化を感受し、骨表面の破骨細胞と骨芽細胞を制御しているのが、骨基質に埋め込まれ存在する骨細胞である。しかし、骨細胞がどのように力学的な変化を感受・応答し、骨の組織量や構造を再構築するのかいまだ不明な点が多い。本研究開発は、骨の動的な恒常性を司る骨細胞に主眼をおき、力学的変化への感受・応答シグナリング経路を「骨メカノ・カスケード」と名付け、その実態と破綻機構の解明から、骨の動的な恒常性の学問的な理解と新規骨疾患治療の分子基盤に道をつけ

る試みである。

本年度、分子生物学アプローチ・アームは、骨メカノ・カスケードの実態と破綻メカニズムの解明を目指し、生体レベルでの力学的負荷・免荷モデルを構築した。また、骨細胞のメカニカルストレス実験系の構築から、力学的な環境変化に伴う全遺伝子の網羅解析も順調で、骨メカノ・カスケード分子を同定する基盤が整った。また、特筆すべきことに、生体レベルでの新たな力学的負荷モデルとして、矯正力に伴う顎骨リモデリングを評価する実験系を構築に成功した。そして、世界に先駆けた顎骨構成細胞の新規単離法と骨細胞特異的な遺伝子欠損マウスの作成・解析から、生体レベルで力学的な負荷に伴う破骨細胞の出現メカニズムを明らかにした。さらに、本実験で骨メカノ・レスポンス分子が同定され、中和抗体による新たな治療戦略の分子基盤を確立することに成功した。

分子・細胞バイオメカニクスアプローチ・アームでは、力学・数理科学に基づき、骨の構造・機能の多階性に着目した骨メカノ・カスケードの実態と破綻の解明を目指している。本年度は、両アーム間で密な議論を行い、新しい「骨構造リモデリングの多階層数理モデル構築」のための基礎的なフレームワークを検討した。ここでは、骨細胞ネットワークの形態イメージングやマイクロ・マクロ力学解析を土台として、骨メカノ・カスケードの統合的な時空間ダイナミクスの数理モデルを構築するための基礎的な検討を行った。特に、骨細胞レベルのメカノ・センシング機構から細胞間コミュニケーションを経て制御される骨リモデリングの多階層システムダイナミクスを力学・生化学シグナル連成を考慮したモデルとして構築した。さらに、「単一細胞・*ex vivo* 器官培養系の力学解析法の基礎的検討」の第一歩として、実験条件を検討し、骨細胞の可視化手法の検討、および、器官培養系において骨に力学負荷を付与する装置の基本仕様を検討した。

The weight-bearing exercises help to build bones and to maintain them strength. On the other hand, bone loss with bedridden and space flight are well known as essential problems. Bone is constantly renewed by the balanced action of osteoblastic bone formation and osteoclastic bone resorption both of which mainly occur at the bone surface. This restructuring process called "bone remodeling" is important not only for normal bone mass and strength, but also for mineral homeostasis. During bone remodeling, resorption by osteoclasts precedes bone formation by osteoblasts. Based on the fact that osteocytes are embedded in the bone matrix and these cells extend dendrites that communicate with adjacent cells, it has been proposed that osteocytes control bone remodeling by sensing and response of mechanical stimuli. However, the molecular basis for the regulatory mechanisms underlying bone remodeling in response to mechanical stimuli has not been sufficiently elucidated. Based on this novel concept of a regulatory mechanisms mediated by osteocytes in response to mechanical stimuli (the "osteomechano-cascade"), we plan to investigate the biological systems of osteocytes through approach combined with comprehensive analysis and sophisticated genetically modified mouse system. This project will not only enable a better understanding of the regulatory system of higher biological functions of bone remodeling, but also provide a molecular basis for developing new therapeutic strategies for various bone diseases.

Since last year, Molecular biology approach-arm is constructing *in vivo* mechanical loading/unloading model. From construction of the *in vitro* mechanical stress experiment of osteocytes, we have performed the exhaustive analysis of all genes accompanying the mechanical environmental change. So, the foundation for identifying osteomechano-cascade molecules has been established. Especially, we have established an *in vivo* orthodontic mechanical force-induced tooth movement model and a novel isolation method of periodontal tissue component

cells from alveolar bone. Using newly established methods and conditional KO mice, we identified that osteocytes expressed an osteomechano-response factor in periodontal tissue. Importantly, neutralizing antibody against osteomechano-response factor resulted in a significant reduction in orthodontic mechanical force-induced tooth movement. These results suggest that local application of drugs targeting osteocytes would help in anchorage management of orthodontic treatment more specifically by regulating the expression of osteomechano-response factor. Thus, in this year, we provide *in vivo* evidence for the key role of osteocyte-derived osteomechano-response factor in alveolar bone remodeling, establishing a molecular basis for orthodontic force-mediated bone resorption regulated by osteocytes.

The Biomechanics Approach-arm has been contributing to the basic understanding of the mechanism of homeostatic behaviors of the osteomechano-cascade and its catastrophic breakdown through the biomechanical approach combined with mathematical modeling and computer simulation. After the profound discussion between two Approach-arms, we developed a basic theoretical framework for multiscale biomechanics of bone remodeling, in which spatiotemporal dynamics of the osteomechano-cascade were mathematically modeled by expressing the coupling effects of mechanocascade molecules with mechanical forces acting on osteocytes. In particular, osteomechano-sensing by bone cells and their communication were involved as key factors to understand the multiscale system dynamics of bone remodeling. In addition, basic ideas in designing *in vitro* experiment for single-cell mechanosensing and *ex vivo* organ-culture experiment for osteomechano-response were discussed.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 8 件、国際誌 3 件）

1. Osteoblasts mediate immunosuppression in sepsis. Terashima A, Okamoto K, **Nakashima T**, Akira S, Ikuta K, Takayanagi H. *Immunity* 44(6):1434-43 (2016). [IF=21.561]
2. Identification of biallelic LRRK1 mutations in osteosclerotic metaphyseal dysplasia and evidence for locus heterogeneity. Iida A, Xing W, Docx MK, **Nakashima T**, Wang Z, Kimizuka M, Van Hul W, Rating D, Spranger J, Ohashi H, Miyake N, Matsumoto N, Mohan S, Nishimura G, Mortier G, Ikegawa S. *J Med Genet.* 2016 Apr 7. pii: jmedgenet-2016-103756 (2016). [IF=6.335]
3. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells enhance bone regeneration. Ono T, Okamoto T, **Nakashima T**, Nitta T, Hori S, Iwakura Y, Takayanagi H. *Nat Commun* 7:10928 (2016). [IF=11.470]
4. **中島友紀**：骨代謝とメカノバイオロジー *CLINICAL CALCIUM* 26 (12) 35-45 (2016)
5. 林幹人、**中島友紀**：セマフォリンと骨粗鬆症 *CLINICAL CALCIUM* 26 (10)1419-1427 (2016)
6. **中島友紀**：RANKLとオステオネットワーク *CLINICAL CALCIUM* 26 (8)1135-1142 (2016)
7. **中島友紀**：骨粗鬆症～骨の恒常性と破綻～ 医学のあゆみ 257 (10) 985-991 (2016)
8. 林幹人、**中島友紀**：セマフォリンシグナルによる骨リモデリング制御 *THE BONE* 30(2) 151-156 (2016)
9. **中島友紀**：巻頭言：骨免疫学～境界を越えて～ *CLINICAL CALCIUM* 26 (5) 7 (2016)

10. RANKL/OPG の産生細胞 中島友紀: *ファーマナビゲーター 抗RANKL 抗体編* (メディカルレビュー社) 60-69 (2016)
11. 骨細胞による破骨細胞分化の制御機構 中島友紀: *骨・臓器ネットワークとオステサイト* (メディカルレビュー社) 44-53 (2016)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 口頭 第6回徳島骨カルシウム懇話会 徳島 中島友紀 骨リモデリングの制御機構の解明 2月23日2017年 特別講演
2. 口頭 第16回 Niigata Bone Research Conference 新潟 中島友紀 骨代謝を制御する骨リモデリングの制御機構 2月17日2017年 特別講演
3. 口頭 JCR(日本リウマチ学会) 全国中央教育研修会大阪大会 大阪 中島友紀 RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- 12月4日2016年 教育講演
4. 口頭 第43回日本臨床バイオメカニクス学会 札幌 中島友紀 骨細胞による骨リモデリングの制御 10月8日2016年 シンポニスト
5. 口頭 JCR(日本リウマチ学会)全国中央教育研修会東京大会 東京 中島友紀 RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- 8月28日2016年 教育講演
6. 口頭 Neo VitaminD Workshop 学術集会 東京 中島友紀 ビタミンDと骨細胞 8月27日2016年 シンポニスト
7. ポスター 第58回歯科基礎医学会 札幌 庄司あゆみ、小野岳人、森山啓司、中島友紀 歯の矯正学的移動における歯槽骨リモデリングの制御機構の解析 8月25日2016年
8. ポスター 第58回歯科基礎医学会 札幌 福島由佳乃、井上維、小野岳人、和気弘明、小野卓史、中島友紀 咀嚼刺激低下は顎口腔組織の成長を抑制し記憶学習障害を誘発する 8月25日2016年
9. 口頭 第34回日本骨代謝学会 日本リウマチ学会合同シンポジウム 大阪 RANKL を標的とした治療戦略 中島友紀 7月22日2016年 シンポニスト
10. 口頭 第2回日本骨免疫学会 沖縄 中島友紀 骨リモデリングの制御機構 7月8日2016年 シンポニスト
11. 口頭 第2回日本骨免疫学会 沖縄 寺島明日香、岡本一男、中島友紀、高柳広 敗血症において骨芽細胞の消失が免疫不全を誘発する 7月7日2016年
12. ポスター 第2回日本骨免疫学会 沖縄 福島由佳乃、井上維、小野岳人、和気弘明、小野卓史、中島友紀 咀嚼機能と高次脳機能の連関システムの解析 7月7日2016年
13. ポスター 第2回日本骨免疫学会 沖縄 小野岳人、岡本一男、中島友紀、新田剛、高柳広 $\gamma\delta T$ 細胞による IL-17 を介した骨再生促進作用 7月7日2016年
14. ポスター 第2回日本骨免疫学会 沖縄 小松紀子、Lynett Dank、中島友紀、高柳広 自己免疫関節炎における免疫系による破骨細胞の分化誘導機構 7月7日2016年
15. ポスター 第2回日本骨免疫学会 沖縄 庄司あゆみ、小野岳人、森山啓司、中島友紀 歯の矯正学的移動における歯槽骨リモデリングの制御機構の解析 7月6日2016年

16. ポスター 第 2 回日本骨免疫学会 沖縄 塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広 新規 Th17 細胞サブセットの歯周炎における役割 7月6日 2016年
17. ポスター 第 2 回日本骨免疫学会 沖縄 中村春彦、中島友紀、林幹人、高柳広、田中栄 破骨細胞分化においてヒストン修飾により制御される遺伝子 Msi2 の解析 7月6日 2016年
18. 口頭 第 60 回日本リウマチ学会総会 アニュアルコースレクチャー 横浜 中島友紀 RANKL Biology -骨破壊から新たな制御システムまで- 4月24日 2016年 教育講演

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的先端研究開発支援事業ユニットタイプ「メカノバイオロジー機構の
解明による革新的医療機器及び医療技術の創出」研究開発領域

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation,

研究開発課題名：(日本語) 骨恒常性を司る骨細胞のメカノ・カスケードの解明

(英語) Elucidation of mechano-cascade by osteocyte for bone homeostasis

研究開発担当者 (日本語) 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学
教授 中島 友紀

所属 役職 氏名：(英語) Department of Cell Signaling, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University, Professor, Tomoki Nakashima

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 骨メカノ・カスケードの実証解析: 分子生物学アプローチ・アーム

開発課題名：(英語) Analysis of osteomechano-cascade: Molecular biology approach-arm

研究開発分担者 (日本語) 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所
教授 安達 泰治

所属 役職 氏名：(英語) Department of Biosystems Science, Institute for Life and Medical Sciences,
Kyoto University, Professor, Taiji Adachi

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・中島友紀 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌2件、国際誌0件）

1. 安達泰治. 力学環境下における骨欠損内部の骨梁形態形成の予測. CLINICAL CALCIUM. 2016, 26, 1779-1787.
2. 安達泰治. 骨再生用スキャフォールド構造設計の計算医工学支援. 医学のあゆみ. 2016, 257(10), 1112-1118.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Role of Mechanical Forces that Shape Living Tissues and Organs: Multiscale Modeling and Simulation, 口頭, Taiji Adachi, 2nd International Symposium on Nanoarchitectonics for Mechanobiology (Plenary Talk), 2016/7/27-28, 国内.
2. 骨細管内の微視的挙動を考慮した巨視的な骨再構築駆動力の検討, 口頭, 金英寛, 亀尾佳貴, 田中栄, 安達泰治, 日本機械学会 2016 年度年次大会, 2016/9/12-14, 国内.
3. 組織内骨細胞の形態変化過程の解明を目指した実験手法の検討, 口頭, 松村保之, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, 日本機械学会 2016 年度年次大会, 2016/9/12-14, 国内.
4. 骨細胞による微視的な力学刺激感知機構を考慮した巨視的な骨リモデリング数理モデルの提案, 口頭, 金英寛, 亀尾佳貴, 田中栄, 安達泰治, 第 43 回日本臨床バイオメカニクス学会, 2016/10/8-9, 国内.
5. ECM に刺激されたインテグリン-アクチン構造体の成熟過程におけるナノ力学特性評価, 口頭, 仲尾信彦, 牧功一郎, 安達泰治, 日本機械学会第 27 回バイオフィロンティア講演会論文集, 2016/10/22-23, 国内.
6. マウス頭蓋冠と長管骨における単離骨細胞の形態比較, 口頭, 芦谷遼太郎, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, 日本機械学会第 27 回バイオフィロンティア講演会論文集, 2016/10/22-23, 国内.
7. 骨保護作用を有するシグナル分子を考慮した骨代謝数理モデルの構築, 口頭, 宮雄貴, 亀尾佳貴, 中島友紀, 安達泰治, 日本機械学会第 27 回バイオフィロンティア講演会論文集, 2016/10/22-23, 国内.
8. 曲げを受ける培養長管骨中の遺伝子発現解析, 口頭, 松村保之, 須長純子, 亀尾佳貴, 安達泰治, 日本機械学会バイオエンジニアリング部門第 29 回バイオエンジニアリング講演会, 2017/1/19-20, 国内.
9. 間質液流れを介した細胞間シグナル輸送が骨の機能的適応に及ぼす影響, 口頭, 三輪将也, 亀尾佳貴, 安達泰治, 日本機械学会バイオエンジニアリング部門第 29 回バイオエンジニアリング講演会, 2017/1/19-20, 国内.
10. Nano-mechanical Measurement of Integrin-based Focal Complex Using AFM, ポスター, Nobuhiko Nakao, Koichiro Maki, Taiji Adachi, CDB Symposium 2017, Toward Understanding Human Development, Heredity, and Evolution, 2017/3/27-29, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし