

2017年9月15日—2017年10月20日

Bone Club 紹介論文リスト

1. Sci Rep 7:10775, 2017
BMP-2 は、Dlx3/Osx シグナル経路を介して象牙芽細胞における Dspp 転写を誘導する
2. Nat Commun 8:15287, 2017
エキソソームは細胞から有害な DNA を排泄することによって細胞の恒常性を維持する
3. Cell Rep 19:2014-2025, 2017
mTOR 阻害は母親のリポタンパク質受容体喪失により引き起こされるミルク障害を緩和する
4. J Bone Miner Res 32: 1829-1840, 2017
mTORC1 は、NF- κ B/ NFATc1 シグナルを阻害し、in vitro および in vivo でマウスにおける破骨細胞前駆細胞の分化を阻害する
5. JCI Insight 2:e93771, 2017
加齢はマウスにおいて de novo の皮質骨内骨リモデリングと多孔質化を引き起こす
6. Mol Immunol 91:65-74, 2017
ヒト β -デフェンシン 3 は、マクロファージの炎症反応を抑制することによって、歯周炎発症を抑制する
7. Immunity 47: 66079, 2017
低酸素感受性の COMMD1 は、ヒトマクロファージにおいて細胞内シグナルと代謝を統合し、破骨細胞分化を抑制する
8. Stem Cells doi: 10.1002/stem.2691 [Epub ahead of print], 2017
Wnt5a 受容体 ROR2 は、軟骨分化能の高いヒト間葉系幹細胞を予測するための細胞表面マーカーである
9. Proc Natl Acad Sci USA 114:E6867-E6874, 2017
インターフェロン- γ は、サイトカイン誘導性分化の主要なチェックポイント調節因子である

1. 2017年9月15日 堀部寛治 抄読

BMP-2 induced Dspp transcription is mediated by Dlx3/Osx signaling pathway in odontoblasts.

Yang G, Yuan G, MacDougall M, Zhi C, Chen S.

Sci Rep 7:10775, 2017

BMP-2 は、Dlx3/Osx シグナル経路を介して象牙芽細胞における Dspp 転写を誘導する

象牙芽細胞の分化マーカーDentin sialophosphoprotein (Dspp) は、BMP-2 によって調節される。しかし、そのメカニズムの詳細まだ分かっていない。また、転写因子 Dlx3 および Osx が象牙芽細胞の分化に必須であることが分かっている。本報告者らは、象牙芽細胞における BMP-2 の DSPP 転写活性は、Dlx3 および/または Osx を介しておこなわれていると仮説を立て、研究を行った。象牙芽細胞の蛍光免疫染色により BMP-2 が in vitro および in vivo の両方で Dlx3 および Osx の発現および核移行を刺激することを見出した。Osx は Dlx3 の下流

標的であり、両方とも Dsp 発現を刺激した。異なる長さの Dspp プロモーターを用いたルシフェラーゼ assay により、Dlx3 および Osx は Dspp プロモーターヌクレオチド(nt)-318~+54 を活性化することが判明した。nt -318~+ 54 の Dspp プロモーターと Dlx3 および Osx の結合を、クロマチン免疫沈降によって確認した。Dspp プロモーター上に 2 つの Dlx3 結合部位、1 つの Osx 結合部位が存在することを electrophoretic mobility shift assay (EMSA)によって見出した。さらに、これらの Dspp プロモーター上の結合部位と Dlx3/Osx の結合による作用を、Dlx3/Osx の結合部位を point mutation により欠失させた Dspp プロモーターを用いることによって確認した。最後に、象牙芽細胞において Dlx3 と Osx が相互作用によって結合することを共免疫沈降により明らかにした。今回の研究により、BMP-2 は Dlx3 / Osx 経路を介して象牙芽細胞の Dspp の転写を活性化することが明らかとなった。

2. 2017 年 9 月 15 日 山下照仁 抄読

Exosomes maintain cellular homeostasis by excreting harmful DNA from cells.

Takahashi A, Okada R, Nagao K, Kawamata Y, Hanyu A, Yoshimoto S, Takasugi M, Watanabe S, Kanemaki MT, Obuse C, Hara E.

Nat Commun 8:15287, 2017

エキソソームは細胞から有害な DNA を排泄することによって細胞の恒常性を維持する

エキソソームは、細胞間コミュニケーションを介して、様々な生理的現象や疾患発症に関与している。しかし、エキソソーム分泌細胞自身における、その生物学的役割は未解明である。本研究は、細胞恒常性を維持する上で、エキソソーム分泌が重要な役割を担っていることを示した。エキソソーム分泌を阻害すると、核由来 DNA が細胞質中に蓄積し、細胞質 DNA 感知機構の活性化が惹き起こされた。この現象はさらに、自然免疫応答を誘導し、活性酸素種 (ROS) 依存性の DNA 損傷応答を誘発することにより、正常なヒト細胞において老化様細胞周期停止とアポトーシス亢進を誘導した。また、エキソソームは様々な長さの染色体 DNA 断片含んでいることが観察された。以上の結果から、エキソソームを分泌することにより、有害な細胞質 DNA を細胞から排除して細胞の恒常性を維持することが示された。これらの知見は、エキソソームの生物学的役割の理解を深め、細胞の恒常性制御に関する新しい洞察を提供する。

3. 2017 年 9 月 22 日 高橋直之 抄読

mTOR Inhibition Subdues Milk Disorder Caused by Maternal VLDLR Loss.

Huynh H, Wei W, Wan Y.

Cell Rep 19:2014-2025, 2017

mTOR 阻害は母親のリポタンパク質受容体喪失により引き起こされるミルク障害を緩和する

超低密度リポタンパク質受容体 (very-low density lipoprotein receptors VLDLR) が骨格恒常性に影響を与えるかどうか、それがどのように骨格恒常性に関与するかは不明である。ここでは、母親と子の VLDLR が破骨細胞形成および骨吸収において反対の役割を果たすことを報告する。子供における VLDLR の欠失は、RANKL シグナル伝達を増強することによって破骨細胞分化を増強する(それは骨粗鬆症を引き起こす)。対照的に、母親の VLDLR 欠失は、牛乳代謝を変化させる。それはミルクを飲んでいる子供の破骨細胞分化を阻害し大理石骨病を引き起こす。また、子供の毛皮消失を引き起こす。ふたつの現象は母親の影響が支配

的である。VLDLR を含まない泌乳中の乳腺は、より活発な mTORC1 シグナルとコレステロール合成を示す。VLDLR-欠損の母親の治療において、スタチンではなくラパマイシンが、子供の低骨吸収および毛皮消失の両方を予防することができる。また、母親の脂肪細胞(造血系細胞なく)の mTORC1 の減弱が子供の大理石骨病と毛皮消失を防ぐことが、Genetic rescue 実験でも示された。我々の研究は、泌乳および破骨細胞形成における VLDLR および mTORC1 の機能を明らかにし、骨および代謝疾患の鍵メカニズムと治療指針に新しい洞察を与える。

4. 2017 年 9 月 22 日 荒井 敦 抄読

mTORC1 Inhibits NF- κ B/NFATc1 Signaling and Prevents Osteoclast Precursor Differentiation, In Vitro and In Mice.

Zhang Y, Xu S, Li K, Tan K, Liang K, Wang J, Shen J, Zou W, Hu L, Cai D, Ding C, Li M, Xiao G, Liu B, Liu A, Bai X.

J Bone Miner Res 32: 1829-1840, 2017

[mTORC1 は、NF- \$\kappa\$ B/ NFATc1 シグナルを阻害し、in vitro および in vivo でマウスにおける破骨細胞前駆細胞の分化を阻害する](#)

mTORC1 は、骨のホメオスタシスおよび骨形成のための重要なセンサーである。しかし、破骨細胞形成における mTORC1 の役割は、明らかではない。著者らは、in vitro および in vivo の実験系を用いて、破骨前駆細胞の mTORC1 活性は破骨細胞への分化過程で、減少することを見出した。LyzM-cre マウスを用い、破骨細胞前駆細胞(単球/マクロファージ)の mTORC1 を恒常的に活性化するために、Tsc1(mTORC1 のネガティブレギュレーター)の欠失を誘導した(破骨細胞前駆細胞特異的 mTORC1 活性亢進マウス)。また、mTORC1 を抑制するために、Raptor(mTORC1 主要成分)の欠失を誘導した(破骨細胞前駆細胞特異的 mTORC1 欠損マウス)。Raptor を欠失した骨髄単球/マクロファージ(BMM)の培養では、破骨細胞形成が増加した。Raptor 欠損マウスは、破骨細胞形成の増強により骨量は減少した。逆に、Tsc1 を欠く BMM は、破骨細胞への分化と骨吸収機能が抑制された。その抑制は、mTORC1 の阻害剤であるラパマイシン処理により回復した。さらに、mTORC1 は破骨細胞前駆細胞において破骨細胞分化に必須である NF- κ B と NFATc1 の発現を negative に調節することを示した。これらの結果は、mTORC1 が破骨細胞分化制限シグナルとして重要な役割を果たすことを示唆し、臨床的に mTOR 阻害剤による骨損失関連疾患を治療できる可能性を示した。

5. 2017 年 9 月 29 日 上原俊介 抄読

Old age causes de novo intracortical bone remodeling and porosity in mice.

Piemontese M, Almeida M, Robling AG, Kim HN, Xiong J, Thostenson JD, Weinstein RS, Manolagas SC, O'Brien CA, Jilka RL.

JCI Insight 2:e93771, 2017

[加齢はマウスにおいて de novo の皮質骨内骨リモデリングと多孔質化を引き起こす](#)

高齢の女性および男性における骨粗鬆症性骨折の原因となる重要な解剖学的変化は、皮質骨の厚さの減少および皮質骨の多孔性の増加である。これらの変化の細胞基盤は、基本多細胞単位(Bone multicellular unit: BMU)を構成する破骨細胞および骨芽細胞による不均衡

な骨内膜および皮質骨のリモデリングである。ヒトと同様に、マウスは年齢とともに皮質骨を失うが、ヒトとは異なり、この損失は性ステロイド充足に直面する。従って、マウスは、年齢別の骨粗鬆症のメカニズムを解明するための理想的なモデルである。それにもかかわらず、マウスにおける骨内膜または皮質骨リモデリングの証拠の欠如は、それらの解釈上の関連性について疑問を提起している。著者らは、スイスウェブスターマウスへの破骨細胞形成を抑制するサイトカインであるオステオプロテゲリンの投与が破骨細胞を除去するのみならず骨内膜の骨形成も低下させ、BMU ベースの骨内膜リモデリングの発生を実証することを示す。C57BL/6J と BALB/cBy マウスの F1 ハイブリッドと同様に、高齢のオスおよびメスの C57BL/6J マウスにおいて、大腿骨の皮質骨の厚さが減少した。この減少は C57BL/6J マウスでより大きく、遺伝的影響を示した。さらに、骨内膜のリモデリングは、破骨細胞の増加および骨芽細胞数の減少のために不均衡になった。大腿骨の皮質骨の空隙率は年齢とともに増加したが、両系統のメスではるかに高かった。注目すべきは、増加した皮質骨の多孔性は、オステオン様構造による皮質骨内 de novo リモデリングに起因することである。年齢依存性皮質骨量減少は、骨細胞 DNA 損傷の増加、細胞老化、老化関連分泌表現型、および RANKL レベルの増加と関連していた。老齢マウスにおける不均衡な骨内膜および皮質骨リモデリングの実証により、この動物モデルとヒトの致命的骨粗鬆症との関連性が立証される。

6. 2017 年 9 月 29 日 尾崎友輝 抄読

Human β -defensin 3 inhibits periodontitis development by suppressing inflammatory responses in macrophages.

Cui D, Lyu J, Li H, Lei L, Bian T, Li L, Yan F.

Mol Immunol 91:65-74, 2017

[ヒト \$\beta\$ -デフェンシン3は、マクロファージの炎症反応を抑制することによって、歯周炎発症を抑制する](#)

ヒト β デフェンシン 3(hBD3)は、先天的免疫応答および後天性免疫応答の両者に免疫調節効果を有するカチオン性ペプチドである。歯周組織に深く広がる炎症性疾患である歯周炎は、歯の周囲の支持構造の喪失を引き起こす。本研究では、マウスの歯周炎に対する hBD3 の単独療法としての効果を評価し、その機序を探究した。hBD3 投与は、マウス歯周炎モデルにおいて *Porphyromonas gingivalis* (P.g.)に感染させた歯周組織で、腫瘍壊死因子(TNF)- α 、IL-6、およびマトリックスメタロプロテアーゼ-9 の発現レベルを抑制した。さらに、破骨細胞形成の減少および歯槽骨損失のさらなる低下も観察された。加えて、hBD3 投与は、循環している単球の M2 表現型の増加を促した。In vitro において、hBD3 は、P.g.のリポ多糖(LPS)で刺激した RAW264.7 細胞における TNF- α および IL-6 の産生を顕著に抑制した。さらに、hBD3 は、RAW264.7 細胞の M1 表現型への分化を減弱させ、NF- κ B シグナルの活性を低下させた。以上より、hBD3 は in vivo および in vitro において、強力な抗歯周炎特性を示した。この効果は NF- κ B 経路およびマクロファージの M1 表現型への分化阻害と相関すると考えられた。

7. 2017 年 10 月 6 日 小林泰浩 抄読

Hypoxia-Sensitive COMMD1 Integrates Signaling and Cellular Metabolism in Human Macrophages and Suppresses Osteoclastogenesis.

Murata K, Fang C, Terao C, Giannopoulou EG, Lee YJ, Lee MJ, Mun SH, Bae S, Qiao Y, Yuan R, Furu M, Ito H, Ohmura K, Matsuda S, Mimori T, Matsuda F, Park-Min KH, Ivashkiv LB

Immunity 47: 66079, 2017

低酸素感受性の COMMD1 は、ヒトマクロファージにおいて細胞内シグナルと代謝を統合し、破骨細胞分化を抑制する

低酸素症は、未解明な機序によって炎症応答および破骨細胞形成を促進する。我々は、COMMD1 が破骨細胞形成の抑制因子であり、COMMD1 は、低酸素によって抑制されることを同定した。ヒトマクロファージでは、COMMD1 はサイトカイン RANKL による NF- κ B シグナル伝達および転写因子 E2F1 依存性代謝経路の誘導を抑制した。低酸素による COMMD1 タンパク質発現の抑制は、RANKL 誘導性の炎症および E2F1 標的遺伝子の発現、さらに下流の破骨細胞形成を増大させた。E2F1 の標的遺伝子は、炎症性サイトカインの標的遺伝子のみならず、解糖系および代謝に関与する遺伝子であり、Creatine Kinase B (CKB)が含まれていた。CKBはエネルギーの貯蔵に必要な酵素で、破骨細胞の骨吸収機能に重要であることが報告されている。量的形質遺伝子座解析(eQTL)は、関節リウマチにおいて、COMMD1 発現が増加すると、骨破壊が抑制されることを示した。関節炎および炎症性骨吸収マウスモデルにおいて、骨髄球の Commd1 欠損は、破骨細胞の形成を増強した。これらの結果は、病的な炎症状態において破骨細胞形成課程の重要な調節因子として、COMMD1 および E2F 代謝経路を同定し、低酸素が炎症および骨破壊を増強するメカニズムを示している。

8. 2017 年 10 月 13 日 村上康平 抄読

The Wnt5a Receptor, Receptor Tyrosine Kinase-Like Orphan Receptor 2, Is a Predictive Cell Surface Marker of Human Mesenchymal Stem Cells with an Enhanced Capacity for Chondrogenic Differentiation

Dickinson SC, Sutton CA, Brady K, Salerno A, Katopodi T, Williams RL, West CC, Evseenko D, Wu L, Pang S, Ferro de Godoy R, Goodship AE, Péault B, Blom AW, Kafienah W, Hollander AP.

Stem Cells doi: 10.1002/stem.2691 [Epub ahead of print], 2017

Wnt5a 受容体 ROR2 は、軟骨分化能の高いヒト間葉系幹細胞を予測するための細胞表面マーカーである

多能性間葉系幹細胞(MSC)は、組織工学および再生医療において巨大な可能性を秘めている。しかし、MSC は系統分化および組織形成の様々な能力を有する細胞の混合集団であるため、現在まで臨床用途を目的とした開発は制限されていた。著者らは、Receptor Tyrosine Kinase-Like Orphan Receptor 2(ROR2)を、軟骨形成能の高い MSC が発現する細胞表面マーカーとして同定した。著者らはまず、軟骨形成能を有するヒト MSC クローンを作製した。遺伝子のスクリーニングによって、軟骨形成能の高いクローンで発現が高いものとして、ROR2を同定した。クローン化していない集団から単離したとき、ROR2 高発現 MSC は、ROR2 低発現または未分画 MSC より有意に軟骨形成能が高かった。ヒツジの軟骨修復モデルでは、ROR 高発現 MSC は軟骨基質に異常はなく、対照と比較して、有意に広範囲の軟骨欠損部を被覆した。ROR2 高発現 MSC は、血管周囲細胞として存在し、ヒト軟骨、成人骨髄、

および脂肪組織で検出された。変形性関節症(OA)患者の骨髄におけるROR2高発現MSCは対照群よりも有意に少なかった。しかし、これらの細胞を単離し、in vitroで増殖後にはOA患者由来の細胞は、対照と比較してより強くROR2を発現していた。さらに、OA患者由来のMSCは、対照患者由来のMSCよりも大きな軟骨を形成した。著者らは、高レベルのROR2を発現するMSCは、軟骨生成能の高い細胞集団であると結論する。

9. 2017年10月20日 堀部 寛治 抄読

Interferon- γ is a master checkpoint regulator of cytokine-induced differentiation.

Zha Z, Bucher F, Nejatfard A, Zheng T, Zhang H, Yea K, Lerner RA.

Proc Natl Acad Sci USA 114:E6867-E6874, 2017

インターフェロン- γ は、サイトカイン誘導性分化の主要なチェックポイント調節因子である

サイトカインは、細胞増殖、生存、炎症および発達を含む多くの現象に関与することが知られているタンパク質メディエーターである。その調節機構を研究するために、我々は209の異なるサイトカインのライブラリーを作製した。これをサイトカインの相互作用を研究するために組み合わせて用い、特に分化の制御に関するものを検討した。この研究から、IFN- γ が多くのサイトカインの主要なチェックポイント調節因子であることが示された。IFN- γ はオートクリンを介して、STAT1の上昇、多くのサイトカイン受容体と細胞膜でヘテロダイマーを形成しているgp130の細胞内部移行を誘導することで作用する。多くのサイトカイン family に共通した受容体サブユニットgp130を標的とした作用は、マスターレギュレーター(IFN- γ)が多様な受容体を制御することを可能にする。オートクリン機構を加えると、IFN- γ は個々の細胞レベルで細かい制御を行うことが出来る。