

2017年10月27日-2017年12月15日

Bone Clubs 紹介論文要旨リスト

1. Nature 549:476-481, 2017
アスコルビン酸は造血幹細胞の機能と白血病の発生を調節する
2. J Clin Invest 127:3327-3338, 2017
副甲状腺ホルモンは、in vivo においてマウスの骨芽細胞前駆体の運命を調節する
3. J Clin Invest 119:3024-34, 2009
NF- κ Bp100(NF- κ B2)は、TRAF3に依存した機構でTNF誘導性骨吸収を抑制する
4. J Biol Chem 292:10169-10179, 2017
RANKLは、破骨細胞前駆細胞のTRAF3を分解することによって、TRAF6とは独立して、TNF誘導破骨細胞形成を増強する
5. Nat Cell Biol 19:1274-1285, 2017
Wntシグナル阻害薬DKK1は乳がんの肺転移と骨転移に異なる影響を与える
6. J Bone Miner Res doi: 10.1002/jbmr.3340, [Epub ahead of print], 2017
間葉系幹/前駆細胞でケモカインCxcl12/Sdf1を欠損したマウスでは不均衡な骨芽細胞と脂肪細胞分化を呈する
7. J Biol Chem doi: 10.1074/jbc.M116.736009, [Epub ahead of print], 2017
C/EBP α はRANKの細胞内IVVY535-538モチーフによって調節され、c-Fosよりも強力に破骨細胞の形成を促進する
8. J Bone Miner Res 31: 1920-1929, 2017
骨微小環境における老化細胞の同定
9. J Dent Res 96: 815-821, 2017
スクレロステチン欠乏は修復象牙質形成を促進する
10. Nat Commun 8:1519, 2017
DJ-1破骨細胞分化の制御を介して骨ホメオスタシスをコントロールする

1. 2017年10月27日(金) 山下照仁抄読

Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis

Agathocleous M, Meacham CE, Burgess RJ, Piskounova E, Zhao Z, Crane GM, Cowin BL, Bruner E, Murphy MM, Chen W, Spangrude GJ, Hu Z, DeBerardinis RJ, Morrison SJ.

Nature 549:476-481, 2017

アスコルビン酸は造血幹細胞の機能と白血病の発生を調節する

幹細胞の運命は、*in vitro* 培養中の代謝産物レベルによって影響を受けることがあるが、正常組織における代謝産物レベルの生理的変化が *in vivo* での幹細胞機能を調節するかどうかは判っていない。本研究は、組織から直接単離された希少細胞集団を分析するためのメタボロミクス法を開発し、骨髄にわずかに存在するマウス造血幹細胞(HSC)を造血前駆細胞と比較した。それぞれの造血前駆細胞は異なる代謝特性を有していた。ヒトおよびマウスのHSCは、アスコルビン酸を非常に大量に含んでおり、分化に従い減少した。アスコルビン酸を全身的に枯渇する変異マウスでは、腫瘍抑制性のジオキシゲナーゼ Tet2 の機能が部分的に低下して、HSCの出現頻度および機能が亢進した。アスコルビン酸の枯渇は、細胞自律性およびおそらく非細胞自律性機構を介して、Flt3 の遺伝子内縦列重複変異(Flt3ITD)による白血病を増悪した。食餌中にアスコルビン酸塩を添加することにより、Flt3ITD による白血病はほぼ解消した。アスコルビン酸は、Tet2 依存性および非依存性の機構を介して、HSC機能と骨髄芽形成を負に調節した。従って、アスコルビン酸はHSC内に蓄積しTet活性を促進することによってHSCの自己複製を制限し、白血病の発生を抑制する。

2. 2017年11月10日(金) 楊 孟雨

Parathyroid hormone regulates fates of murine osteoblast precursors *in vivo*.

Balani DH, Ono N, Kronenberg HM.

J Clin Invest 127:3327-3338, 2017

副甲状腺ホルモンは、*in vivo* においてマウスの骨芽細胞前駆体の運命を調節する

テリパラチドは、副甲状腺ホルモン(PTH)の組換え型で、骨形成の速度を増加させる骨粗鬆症治療薬である。テリパラチドは、骨芽細胞のアポトーシスを抑制し、骨内層細胞を活性化することによって骨芽細胞数を増加させる。骨芽細胞系の前駆細胞に対するテリパラチドの作用についての直接的な証拠はない。本研究では、成体マウスの骨芽細胞系の前駆細胞を標識するために、タモキシフェン依存性のプロモーター駆動型 Sox9-cre を使用した系譜追跡戦

略を採用した。テリパラチドは Sox9 発現細胞に由来する骨芽前駆細胞の数を増加させ、成熟骨芽細胞への分化を促進した。予想外に、テリパラチド投与中止後、骨髄脂肪細胞は劇的に増加した。これらの脂肪細胞のうちのいくつかは、Sox9 を数週間前に発現した細胞に由来した。テリパラチドによる継続的な治療は、脂肪細胞の出現を妨げた。Sox9 発現細胞における PTH 受容体の選択的欠失は、テリパラチド媒介性の骨量増加を抑制した。すなわち、Sox9 発現細胞における PTH 受容体がテリパラチド媒介性の骨量増加に必要であることを示唆する。テリパラチド投与後の初期前駆細胞の増加は、増殖速度に影響を与えずに前駆細胞アポトーシスを強力に抑制することに起因していた。また、テリパラチド投与により、骨芽細胞の活性型 β catenin は蓄積し、テリパラチド投与を中止するとその蓄積も消失した。以上より、テリパラチドは、骨芽細胞系列の初期細胞の数を増加させ、骨芽細胞への分化を促進し、脂肪細胞への分化を抑制することが明らかになった。

3. 2017 年 11 月 10 日(金) 高橋直之

NF- κ B p100 limits TNF-induced bone resorption in mice by a TRAF3-dependent mechanism.

Yao Z, Xing L, Boyce BF.

J Clin Invest 119:3024-34, 2009

NF- κ Bp100(NF- κ B2)は、TRAF3に依存した機構でTNF誘導性骨吸収を抑制する

TNF および RANKL は、変形性関節症および RA を含む一般的な骨疾患における骨破壊を媒介する。それらは、in vitro で破骨細胞形成を誘導するために、破骨細胞前駆体(OCP)において NF- κ B 古典シグナル伝達を直接活性化する。しかし、RANKL とは異なり、TNF は、NF- κ Bp100 を NF- κ Bp52 に効率的にプロセッシングする代替の NF- κ B 経路(非古典経路)を効率的に活性化せず、また、RANKL の非存在下では in vivo で破骨細胞形成を誘導しないようである。ここでは、TNF が、OCP における NF- κ Bp100 の蓄積を増加させることによって in vitro および in vivo で、RANKL および TNF 誘導性の破骨細胞形成を抑制することを示す。対照的に、TNF は、NF- κ Bp100 を欠損している場合、RANKL または RANK を欠損したマウスにおいて、in vivo でも強力な破骨細胞形成を誘導した。また、NF- κ Bp100 を欠く TNF-Tg マウスは TNF-Tg 同腹子よりも重度の関節侵食および炎症を示した。RANKL ではなく TNF は、B 細胞の NF- κ Bp100 レベルを調節するアダプタータンパク質である TRAF3 の OCP 発現を増加させた。TRAF3 siRNA は、TNF 誘導 NF- κ Bp100 の蓄積および破骨細胞形成の阻害を回復した。これらの知見は、OCP における TRAF3 または NF- κ Bp100

発現のアップレギュレーションは、NF- κ Bp100 分解が阻害阻害され、一般的な骨疾患における骨破壊を制限し得ることを示唆している。

4. 2017 年 11 月 10 日 (金) 高橋直之

RANKL cytokine enhances TNF-induced osteoclastogenesis independently of TNF receptor associated factor (TRAF) 6 by degrading TRAF3 in osteoclast precursors.

Yao Z, Lei W, Duan R, Li Y, Luo L, Boyce BF.

J Biol Chem 292:10169-10179, 2017

RANKL は、破骨細胞前駆細胞の TRAF3 を分解することによって、TRAF6 とは独立して、TNF 誘導破骨細胞形成を増強する

RANKL および TNF は、閉経後骨粗鬆症および炎症性関節炎における破骨細胞(OC)形成および骨減少の増加を誘導する。RANKL および TNF は、それらの受容体に結合する TNF 受容体関連因子(TRAF)アダプタータンパク質を介して、WT OC 前駆体から in vitro で OC 形成を誘導する。これらのうち、in vitro での RANKL 誘発破骨細胞形成に TRAF6 が必要であるが、関与する分子機構は理解されていない。TRAF6 欠損 OC 前駆細胞をプラスチック上で培養した場合、RANKLはTRAP陽性破骨細胞を誘導しなかったが、骨切片で培養した場合、骨吸収性 OC の形成を誘導した。その破骨細胞誘導機構には、TRAF6 欠損 OC 前駆細胞と骨基質との相互作用で生じる TGF β と OC 形成の既知阻害剤である TRAF3 の分解が関与した。これらの知見と一致して、RANKL は、TRAF6 欠損の OC 前駆細胞からの TNF 誘導性 OC 形成を増強した。さらに、TNF は、骨髓細胞特異低 TRAF3 欠損マウスからより多くの OC を誘導したが、TNF はこれらの細胞からの RANKL 誘導性 OC 形成を阻害しなかった。TRAF3 を過剰発現あるいはオートファゴソリソーム阻害剤クロロキンで処理された TRAF6 欠損 OC 前駆細胞は、TNF 単独または RANKL との組み合わせにおいて、OC 形成は抑制された。RANKL は、TRAF3 を分解することによって、TRAF6 とは独立して TNF 誘導性 OC 形成を増強し得ると結論した。クロロキンのような薬物による TRAF3 分解の予防が、これらのサイトカインの産生上昇より骨吸収が増加する疾患における過剰な OC 形成を減少させることができることを示唆している。

5. 2018 年 11 月 17 日 吉田和薫 抄読

Differential effects on lung and bone metastasis of breast cancer by Wnt signalling inhibitor DKK1

Zhuang X, Zhang H, Li X, Li X, Cong M, Peng F, Yu J, Zhang X, Yang Q, Hu G.
Nat Cell Biol 19:1274-1285, 2017

Wnt シグナル阻害薬 DKK1 は乳がんの肺転移と骨転移に異なる影響を与える

転移は全身的な病態で、転移の決定因子は種々の標的臓器に異なる影響を与える。我々は腫瘍が産生する DKK1 が乳がんの血清肺転移マーカーであることと、肺転移を妨げることを示す。DKK1 は肺転移において PTGS2 誘発性のマクロファージと好中球の遊走を Wnt 非古典経路の PCP-RAC1-JNK シグナルを阻害することで抑制する。肺では DKK1 は Ca²⁺-CaMK2-NF- κ B シグナルも抑制し、がん細胞の LTBP1 調節性の TGF- β 分泌を抑制する。対照的に、DKK1 は骨芽細胞の Wnt 古典経路を調節することで乳がんの骨転移を促進する。重要なことに、WNT 古典経路を治療ターゲットとしてもがんの転移には効果が薄い。JNK と TGF- β シグナルを両方とも阻害すると肺と骨両方の転移を抑制する。つまり DKK1 は臓器への転移に関し相反する二つの役割を持ち、我々のデータは新しい転移治療の論理的な根拠を提供する。

6. 2017 年 11 月 17 日(金) 溝口利英抄読

Imbalanced Osteogenesis and Adipogenesis in Mice Deficient of the Chemokine Cxcl12/Sdf1 in the Bone Mesenchymal Stem/progenitor Cells.

Tzeng YS, Chung NC, Chen YR, Huang HY, Chunang WP, Lai DM.

J Bone Miner Res doi: 10. 1002/jbmr.3340, [Epub ahead of print], 2017

間葉系幹/前駆細胞でケモカイン Cxcl12/Sdf1 を欠損したマウスでは不均衡な骨芽細胞と脂肪細胞分化を呈する

ケモカインである Cxcl12(SDF1 と呼ばれる)は、骨髄での造血幹細胞の維持に必須な因子として知られる。しかしながら、Cxcl12 の間葉系細胞に対する作用についてはよく分っていない。本研究では、骨組織における間葉系細胞分化の恒常性維持に対する Cxcl12 の役割を明らかにした。マウスの発生段階で、Prx1 および Osterix(Osx)が陽性の間葉系幹/前駆細胞(MSPC)由来の Cxcl12 を欠損させた。その結果、脂肪細胞数が上昇する反面、骨量が低下した。Cxcl12 の欠損に伴い上昇した脂肪細胞は、MSPC 由来であった。一方、成体期における MSPC 特異的な Cxcl12 欠損は、脂肪細胞分化には影響しないが、骨量は低下した。さらに、Cxcr4(Cxcl12 の受容体)の MSPC 特異的な欠損は、骨量減少を呈するが、脂肪細胞分化には影響しなかった。以上より、MSPC 由来の Cxcl12 は、(1)発生期では骨芽細胞分化を正に、脂肪細胞分化を負に制御すること、(2)成体期では骨芽細胞分化を正に制御するが脂

肪細胞分化には影響しないこと、(3)骨芽細胞分化に対してはオートクラインに、脂肪細胞分化には介在因子を経由して作用することが示唆された。さらに本研究で示された、Cxcl12 の MSPC の分化に及ぼす作用は、間接的に造血システムにも影響する可能性も包含する。

7. 2017 年 11 月 24 日村上康平抄読

C/EBP α is Regulated by the RANK Cytoplasmic IVVY535-538 Motif and Stimulates Osteoclastogenesis more Strongly than c-Fos

Jules J, Chen W, Feng X, Li YP.

J Biol Chem doi: 10.1074/jbc.M116.736009, [Epub ahead of print], 2017

C/EBP α は RANK の細胞内 IVVY535-538 モチーフによって調節され、c-Fos よりも強力に破骨細胞の形成を促進する

破骨細胞前駆細胞における RANKL とその受容体 RANK の結合は、2 つの重要な転写因子 c-Fos および C/EBP α を誘導する。しかし、破骨細胞形成に対する c-Fos と C/EBP α の作用は比較されていない。本論文では、破骨細胞前駆細胞の c-Fos あるいは C/EBP α の過剰発現が破骨細胞関連遺伝子を誘導し、破骨細胞の形成を開始することを示している。C/EBP α は破骨細胞前駆細胞の c-Fos を増加させる一方で、c-Fos は C/EBP α を増加させなかった。また、C/EBP α の過剰発現は、c-Fos の過剰発現よりも破骨細胞の分化を強く促進した。RANK はその細胞内に、破骨細胞の形成に必須の IVVY535-538 (IVVY) モチーフを有している。このモチーフに変異をもつ RANK は、C/EBP α と c-Fos の発現を部分的に阻害することで、破骨細胞の分化を阻害した。しかし、C/EBP α または c-Fos の過剰発現は、IVVY 変異 RANK をもつ細胞で、破骨細胞の形成を促進しなかった。さらなる検討により、RANK の IVVY モチーフに変異をもつ細胞は、破骨細胞形成の負の制御因子である RBP-J を増加させることを明らかにした。また、RANK の IVVY モチーフに変異をもつ細胞では、RBP-J をノックダウンすることで、破骨細胞の形成が回復した。これらの知見は、C/EBP α は、部分的に RANK IVVY535-538 モチーフによる制御を介して、c-Fos よりも破骨細胞分化を強力に促進することを示している。

8. 2017 年 11 月 24 日(金) 尾崎友輝抄読

Identification of Senescent Cells in the Bone Microenvironment

Farr JN, Fraser DG, Wang H, Jaehn K, Ogradnik MB, Weivoda MM, Drake MT, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Kirkland JL, Bonewald LF, Pignolo RJ, Monroe DG, Khosla S.

J Bone Miner Res 31: 1920–1929, 2017

骨微小環境における老化細胞の同定

細胞の老化は、細胞が代謝的に活性を維持するが、p16Ink4a のアップレギュレーション、著しい分泌型変化、テロメア短縮、およびペリセントロメリックサテライト DNA の脱凝縮を含む、明確な表現型変化を受け、分裂を止める基本的メカニズムである。老化に伴って複数の組織に老化細胞が蓄積するため、老化関連分泌表現型 (SASP) と呼ばれるこれらの細胞および機能不全因子は、骨粗鬆症を含む加齢性変性病変を予防する有望な治療標的として認識されている。しかし、in vivo で加齢に伴い老化する骨微小環境内の細胞型は、以前の研究が培養細胞の老化に焦点を当てているため、ほとんど理解されていなかった。したがって、我々は若齢(6ヵ月齢)および老齢(24ヵ月齢)のマウスにおいて、in vitro での培養なしで骨/骨髄から迅速に単離された、高度に濃縮された細胞集団における in vivo での老化および SASP マーカーを測定した。メスおよびオスの両方において、リアルタイム定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (rt-qPCR) による p16Ink4a 発現は、B 細胞、T 細胞、骨髄系細胞、骨芽前駆細胞、骨芽細胞、および骨細胞において、加齢に伴い有意に増加した。さらに、senescence-associated distension of satellites (SADS) の in vivo での定量化、すなわちセントロメア周囲の DNA の大規模解明は、若齢マウスの皮質骨と比較して老齢マウスにおいて老化した骨細胞が有意に多いことを示した。さらに、老齢マウス由来の初代骨細胞は、若齢マウス由来の骨細胞よりも、テロメア機能障害誘発病巣 (TIF) が 6 倍多かった。加齢に伴う老化骨細胞の蓄積に対応して、老齢マウスは若齢マウスと比較して骨細胞における複数の SASP マーカーの発現が有意に高かったが、そのいくつかは骨髄系細胞において劇的な加齢に伴うアップレギュレーションも示した。これらのデータは、加齢に伴い、老化骨髄系細胞および老化骨細胞が主に SASP を発現するが、骨微小環境内の様々な系統の細胞のサブセットが老化することを示す。著者らの知見は、老化骨細胞およびその SASP が加齢に伴う骨量減少に寄与し得ることを示唆している。

9. 2017 年 12 月 8 日(金) 趙 麗娟、荒井 敦 抄読

Sclerostin Deficiency Promotes Reparative Dentinogenesis

Collignon AM, Amri N, Lesieur J, Sadoine J, Ribes S, Menashi S, Simon S, Berdal A, Rochefort GY, Chaussain C, Gaucher C.

J Dent Res 96: 815–821, 2017

スクレロスチン欠乏は修復象牙質形成を促進する

ヒトにおいて、SOST 遺伝子はスクロスチンをコードし、骨修復プロセスを負に調節する骨成長およびリモデリングの制御因子である。スクロスチンは歯の形成過程においても関与しているが、歯髄の治癒における潜在的役割は未知のままである。本研究では、Sost ノックアウトマウス(Sost - / -)を用いた修復象牙質形成におけるスクロスチンの役割について解析をおこなった。3ヶ月齢の Sost - / - および野生型(WT)マウスの上顎第一大臼歯を機械的に露髄させ、MTA セメントで覆髄後、コンポジットレジンにより修復し、歯髄修復過程を解析した。修復象牙質形成は、マイクロコンピュータ断層撮影ならびに、組織学的分析によって確認した。露髄前の分析では、WT マウスと比較し Sost - / - マウスの歯髄の体積量は有意に低かった。露髄後 30 および 49 日では、オステオポンチン陽性細胞が存在する修復象牙質が Sost - / - マウスの歯髄で観察されたが、WT マウスの修復象牙質ははるかに小さいサイズであった。長期間観察した結果では、両群においてデンティンシアロプロテイン陽性細胞を含む修復象牙質のサイズは拡大したが、Sost - / - マウスの歯髄は WT マウスと比較して大きなサイズであった。WT マウスでは歯髄の治癒過程において、デンティンブリッジに隣接する細胞においてスクロスチンの発現が認められた。in vitro 解析では、Sost - / - マウス由来の Dental pulp cells(DPCs)による石灰化形成は、WT マウス由来の DPC と比較して亢進していた。さらに WT マウス由来の歯髄細胞における Sost 発現は増加していた。これらの結果から、スクロスチン欠損は、歯髄損傷後の修復象牙質形成を急速に促進し、スクロスチンの阻害が損傷した歯髄の治癒を改善する有望な治療戦略となり得ることを示唆した。

10. 2017 年 12 月 15 日(金) 上原俊介抄読

DJ-1 controls bone homeostasis through the regulation of osteoclast differentiation.

Kim HS, Nam ST, Mun SH, Lee SK, Kim HW, Park YH, Kim B, Won KJ, Kim HR, Park YM, Kim HS, Beaven MA, Kim YM, Choi WS.

Nat Commun 8:1519, 2017

DJ-1 破骨細胞分化の制御を介して骨ホメオスタシスをコントロールする

Receptor activator of NF κ B ligand (RANKL)は、細胞内に活性酸素種(ROS)を産生させる。ROS は破骨細胞前駆細胞である骨髄マクロファージ(BMM)の RANKL 介在性シグナルを増強する。我々は、ROS 除去タンパク質 DJ-1 が RANKL による OC 分化(破骨細胞形成とも呼ばれる)を負に調節することを示す。マウスにおける DJ-1 欠損は、骨量の減少および破骨細胞数の増加をもたらす。インビトロで、RANK 依存性シグナルは、野生型と比較して DJ-1 欠損 BMM において増強される。DJ-1 は、RANK-TRAF6 および RANK-FcR γ / Syk

シグナル伝達の両方の活性化を抑制する。これは、破骨細胞分化の負の制御因子である Src 相同領域 2 ドメイン含有ホスファターゼ-1(SHP-1)の活性化による。SHP-1 活性化は ROS によって阻害される。マウス関節炎モデルおよび RANKL 誘発性骨疾患における破骨細胞数は DJ-1 欠損マウスで増加する。また、骨損傷は増悪する。全体として、我々の結果は、DJ-1 が破骨細胞形成を負に調節することによって、生理的条件および骨関連病変における骨ホメオスタシスに役割を果たすことを示唆する。