

2018年8月22日－10月24日

1. J Dent Res 97:1365-1373, 2018  
Bmi1欠損マウスの象牙質減形成は歯髄間葉系幹細胞へのSirt1過剰発現によりレスキューされる
2. Arterioscler Thromb Vasc Biol 37:553-566, 2017  
Wntシグナル阻害因子であるスクレロスチンは、アンジオテンシンII誘導性大動脈瘤およびアテローム性動脈硬化症を抑制する
3. Dev Cell 45:681-695, 2018  
EMT サブタイプは上皮の可塑性および細胞移動の様式に影響する
4. Am J Pathol 184:3084-93, 2014  
骨吸収抑制および骨形成の抑制は、抗 RANKL 抗体あるいはビスフォスフォネート投与により誘導される顎骨壊死様病変の発生に関与する
5. Am J Pathol 188:2318-2327, 2018  
抜歯前に歯周炎症状状態を取り除くことで、顎骨壊死様病変の発症は改善される。
6. Nature 560:489-493, 2018  
Toll-like receptor 5 による新生児期の選択は、長期に腸内細菌叢組成に影響する
7. J Dent Res 97:1160-1169, 2018  
M1 と M2 マクロファージは炎症性骨吸収および再形成に大きな影響を与える
8. Nature 561:122-126, 2018  
Alpha-kinase 1 は細菌 ADP-ヘプトースの細胞内自然免疫受容体である。
9. Sci Transl Med 10:eaao6806, 2018  
Thy-1 は骨形成を促進し、肥満を防ぐ
10. Nat Commun 9:2193, 2018  
酸化特異的エピトープは骨形成を抑制する
11. Int J Nanomedicine 13:3381-3395, 2018  
階層的（メソ/ミクロ/ナノスケール）の粗面化ジルコニアの生物学的およびオッセオインテグレーション能力
12. Cell Stem Cell 23:193-209, 2018  
PGC-1 $\alpha$  は、TAZ 誘発による骨粗鬆症および骨格老化における骨格幹細胞の運命および骨 - 脂肪バランスを制御する
13. Nature 562:133-139, 2018  
骨膜幹細胞を介した膜内骨化の発見
14. Nat Protoc 13:2247-2267, 2018  
歯周炎研究のための新たなマウス実験モデル

15. Sci Rep 7:17696, 2017  
PIEZO 型機械感受性イオンチャネル成分 1 (PIEZO1) は、間葉系幹細胞の運命決定の制御因子として機能する
16. Development 144:3819-3828, 2017  
Pax9欠損マウスの口蓋裂は低分子Wnt agonistを妊娠マウスに投与することによりレスキューできる
17. PLoS Biol 16: e2002979, 2018  
骨粗鬆症治療を目指した c-FMS と  $\alpha_v\beta_3$  インテグリンに対する二重特異的な M-CSF アンタゴニスト
18. Cell 175:43-56, 2018  
ヒト骨格幹細胞の同定
19. Nature 561:331-337, 2018  
治療用 T 細胞を脳腫瘍へ向かわせるホーミングシステム

1. 2018年8月22日（水） 中村浩彰 抄読

Overexpressed Sirt1 in MSCs Promotes Dentin Formation in Bmi1-Deficient Mice.

Wang H, Lv C, Gu Y, Li Q, Xie L, Zhang H, Miao D and Sun W.

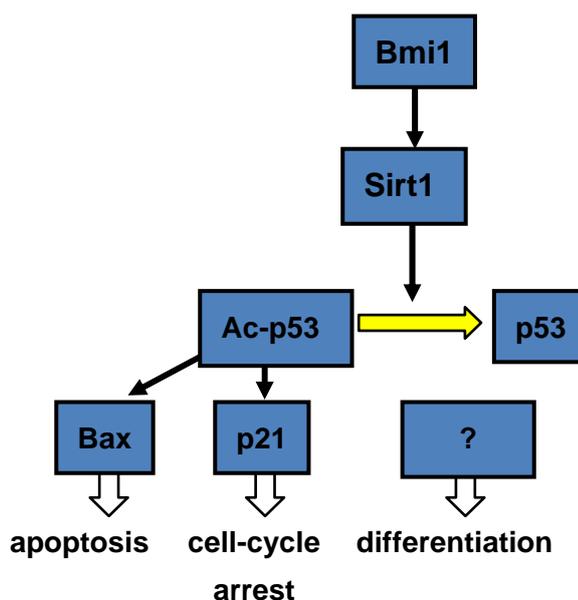
J Dent Res 97:1365-1373, 2018

### Bmi1欠損マウスの象牙質減形成は歯髄間葉系幹細胞へのSirt1過剰発現によりレスキューされる

Sirt1は、NAD-dependent protein deacetylaseでp53、FOXO3a、PPAR- $\gamma$ 、NF-kBなどを脱アセチル化する。ヒト歯髄細胞においてSirt1は象牙芽細胞の遺伝子発現を促進し、Sirt1の阻害は象牙芽細胞への分化を抑制することが報告されているが、in vivoでの役割についてはわかっていない。本論文はBmi1欠損マウス (Bmi1<sup>-/-</sup>) の象牙質減形成がPrx1プロモーターを用いた間葉系幹細胞 (MSC) へのSirt1過剰発現でレスキューできることを示したものである。

著者らは、まずPrx1-Cre / ROSA<sup>nTnG</sup>マウスにおいて歯冠部歯髄にPrx1陽性細胞が存在することを確認した。Prx1-CreによるSirt1過剰発現マウス (Sirt1<sup>TG</sup>) は野生型 (WT) と比較して象牙質量が増加した。一方、Bmi1<sup>-/-</sup>マウスは象牙質量、石灰化度の低下を呈するが、Sirt1<sup>TG</sup>Bmi1<sup>-/-</sup>マウスでは象牙質の成熟度、象牙芽細胞の遺伝子発現がWTと同程度まで回復した。Bmi1<sup>-/-</sup>マウスはBrdU陽性細胞の減少とTUNEL陽性アポトーシス細胞の増加を示し、Sirt1<sup>TG</sup>Bmi1<sup>-/-</sup>マウスではWTと同程度の細胞増殖活性とアポトーシス細胞数を示した。さらに、in vitroでの解析によりBmi1<sup>-/-</sup>マウス由来歯髄間葉系幹細胞ではSirt1発現が減少しており、アセチル化p53、アポトーシスを促進するBaxおよび細胞周期を停止させるp21が増加することがわかった。また、細胞レベルでもBmi1<sup>-/-</sup>マウス由来歯髄間葉系幹細胞の増殖活性低下、アポトーシス増加、象牙芽細胞分化抑制がSirt1<sup>TG</sup>Bmi1<sup>-/-</sup>ではレスキューされることを確認している。

以上の結果より、Sirt1はBmi1の下流に位置し、p53の脱アセチル化により細胞を増殖させ、アポトーシスを抑制すると考えられた (図)。しかし、象牙芽細胞の分化制御機構については不明であり、Prx1陽性間葉系幹細胞でのSirt1過剰発現が象牙質減形成を回復させる機序については今後の課題と思われる。



2. 2018年8月22日（水）小出雅則抄読

Wnt signaling pathway inhibitor sclerostin inhibits angiotensin II-induced aortic aneurysm and atherosclerosis.

Krishna SM, Seto SW, Jose RJ, Li J, Morton SK, Biros E, Wang Y, Nsengiyumva V, Lindeman JH, Loots GG, Rush CM, Craig JM, Golledge J.

Arterioscler Thromb Vasc Biol 37:553-566, 2017

Wntシグナル阻害因子であるスクレロスチンは、アンジオテンシンII誘導性大動脈瘤およびアテローム性動脈硬化症を抑制する

スクレロスチン（SOST）は骨形成の重要な調節因子として同定されている。しかし、動脈疾患へのSOSTの関与は示されていなかった。著者らは、ヒト試料、マウスモデルを用いて、大動脈瘤（AA） およびアテローム性動脈硬化症におけるSOSTの役割を評価した。ヒトおよびマウスのAAサンプルにおいて、SOSTタンパク質の減少を呈した。

アポリポタンパク質E（ApoE）欠損

マウスへのrSostの投与やヒトSOSTのトランスジェニック（Tg）導入は、

アンジオテンシンII誘導AAやアテローム性動脈硬化症の発症を抑制した。

更に、rSost投与やSOST-Tg導入は、ApoE欠損マウスの大動脈におけるマトリックスとエラスチンの分解を減少させて、コラーゲンを維持した。

次に、ヒトAAサンプルにおいて、SOSTの発現が抑制され、Wnt/ $\beta$ -cateninシグナルが活性化されることを示した。

ヒトAAサンプルにおいて、SOST遺伝子プロモーターは高度にメチル化を受けていた。

血管平滑筋細胞において、脱メチル化剤の添加はSOSTの発現上昇をもたらした。

SOST発現がエピジェネティックに調節されることを示唆した。

これらの結果は、SOSTが大動脈で発現することを示した。

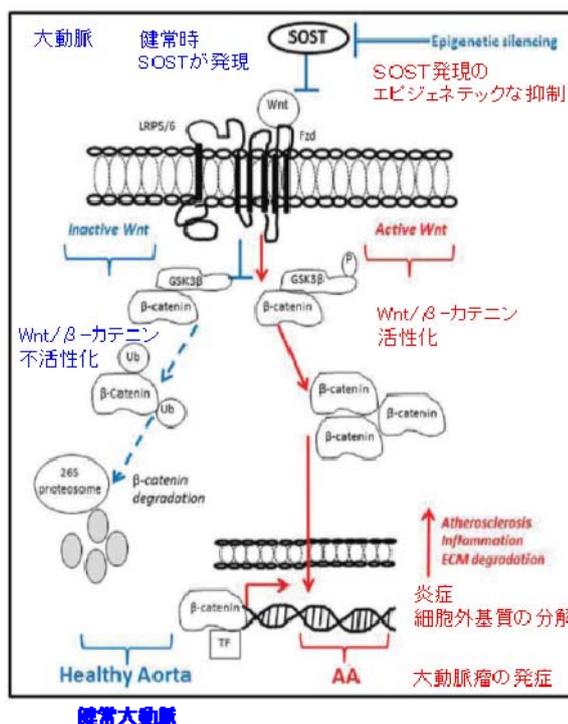
ヒトAAにおいて、SOST発現はエピジェネティックに抑制されている。

SOSTの強発現は、AAやアテローム性動脈硬化症を抑制し、血管疾患の治療に有効であろう。

現在、骨粗鬆症の治療として抗SOST抗体投与による治験が行われている。

治験においても抗SOST抗体投与は血管疾患の発症頻度を促進させる可能性が示唆されている（2017 N Engl J Med）。

今後、抗SOST抗体投与を受けた患者における血管疾患合併症の発症頻度が注目される。



3. 2018年8月29日(水) 平賀 徹 抄読

EMT Subtype Influences Epithelial Plasticity and Mode of Cell Migration.

Aiello NM, Maddipati R, Norgard RJ, Balli D, Li J, Yuan S, Yamazoe T, Black T, Sahmoud A, Furth EE, Bar-Sagi D, Stanger BZ.

Dev Cell 45: 681-695, 2018

EMT サブタイプは上皮の可塑性および細胞移動の様式に影響する

上皮間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition, EMT) は、腫瘍細胞の浸潤および転移に強く関与している。EMT は、主に、EMT 転写因子の抑制的活性を介して転写レベルで調節されると考えられている。しかし、これらの古典的なメカニズムは、ほとんどが in vitro で解析されたものであり、生理学的状況において EMT を駆動するプログラムについては不明な点が残されている。本研究で我々は、EMT を in vivo で研究するために膵管腺癌の系統標識マウスモデルを使用して、大部分の腫瘍が転写抑制よりむしろタンパク質内在化を含む代替プログラムを介して上皮表現型を失う「部分 EMT」を引き起こすことを発見した。このプログラムを利用する癌腫細胞は、古典的に定義された EMT 機構に関連する単一細胞移動パターンとは対照的に、クラスターとして移動する。さらに、多くの乳癌および結腸直腸癌細胞株も EMT を受けるためにこの代替プログラムを利用する。これらの結果は、癌腫細胞が上皮プログラムを失う様々な方法を有し、結果として異なる浸潤および播種様式を生じることを示唆している。

4. 2018年8月29日(水) 高橋直之 抄読

Impaired bone resorption and woven bone formation are associated with development of osteonecrosis of the jaw-like lesions by bisphosphonate and anti-receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand antibody in mice.

Williams DW, Lee C, Kim T, Yagita H, Wu H, Park S, Yang P, Liu H, Shi S, Shin KH, Kang MK, Park NH, Kim RH.

Am J Pathol 184:3084-93, 2014

骨吸収抑制および骨形成の抑制は、抗 RANKL 抗体あるいはビスフォスフォネート投与により誘導される顎骨壊死様病変の発生に関与する

薬物誘発性顎骨壊死 [Drug-induced osteonecrosis of the jaw (ONJ)] は、ビスフォスフォネートや RANKL 中和抗体デノスマブで治療を受けている患者の歯科治療後にしばしば生じる有害な口腔病変である。これらの薬剤による ONJ の原因には、破骨細胞へのそれらの薬物の直接的影響によるものと推測されている。しかしながら、破骨細胞が ONJ の病因に関与するか否かは議論の余地がある。本研究は、マウス抗 RANKL Ab またはビスフォスフォネートであるゾレドロン酸 (ZOL) の投与によって、破骨細胞の形成抑制または機能抑制に起因する骨吸収不全がそれぞれ ONJ 発症に関連する可能性を

示す。これらの薬物をマウスに投与した後に抜歯すると、抗 RANKL Ab 処置において 50%が、ZOL 処置において 30%が ONJ 様病変を発症した。Nonvital の未吸収骨（骨細胞が死滅した骨）は、ZOL 処置と比較して、抗 RANKL Ab 処置マウスにおいてより多く見出された。抗 RANKL Ab を投与されたマウスはの血清中の酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（TRAP）レベルを検出限界以下に低下していた。抗 RANKL Ab 投与マウスの抜歯窩には TRAP 陽性破骨細胞は認められなかった。一方、ZOL 処置マウスは、血清中の TRAP レベルは低下したが、抜歯窩に TRAP-陽性破骨細胞が多数存在した。興味深いことに、抗 RANKL Ab-および ZOL-処置マウスにおいて、ONJ 様病変を示した抜歯窩には、新たに形成された woven bone が存在しなかった。以上の研究は、これらの薬物による破骨細胞の骨吸収機能の欠如および歯科治療後の woven bone 形成の抑制が、ONJ 発達に関連する可能性があることを示唆している。

5. 2018 年 8 月 29 日（水）高橋直之 抄読

Removal of Pre-Existing Periodontal Inflammatory Condition before Tooth Extraction Ameliorates Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw-Like Lesion in Mice.

Kim T, Kim S, Song M, Lee C, Yagita H, Williams DW, Sung EC, Hong C, Shin KH, Kang MK, Park NH, Kim RH.

Am J Pathol 188:2318-2327, 2018

[抜歯前に歯周炎症状態を取り除くことで、顎骨壊死様病変の発症は改善される。](#)

薬物関連顎骨壊死（MRONJ）はビスフォスフォネートやヒト抗 RANKL 抗体デノスマブなど抗吸収剤の長期使用患者で主に発生する稀ではあるが有害な口腔病変である。歯周病のような病的炎症状態を排除するために、抜歯などの外科的介入がしばしば行われるが、それは MRONJ の既知の危険因子である。それにもかかわらず、既存の歯周病態が抜歯による誘導される MRONJ の発症を悪化させるか、または歯周病態の改善が、MRONJ の発症を抑制するかは不明のままである。本研究では、zoledronate（ZOL）またはマウス抗 RANKL 抗体の投与下で結紮誘発性歯周炎および抜歯マウスモデルを組み合わせ、既存の病理学的炎症状態が抜歯後の MRONJ 発生を悪化させるという実験的証拠を提供する。ゾレドロンート（ZOL）投与下では、歯の抽出だけで ONJ 病変が誘発された。しかし、結紮された歯の抽出は、さらに ONJ 発達を悪化させた。結紮を取り除いて炎症状態を解明したところ、ONJ の発生は改善した。抗 RANKL 抗体投与も同様の結果をもたらした。興味深いことに、ZOL 投与マウスとは異なり、抗 RANKL 抗体投与マウスは破骨細胞の完全な欠如が示され、破骨細胞の存在は ONJ 発生に直接関与しないことが示唆された。本研究より、歯周病は、ビスホスホネートおよびデノスマブの存在下での抜歯により誘発される ONJ 発生の危険因子であることが示された。

6. 2018年9月12日(水) 三好智博 抄読

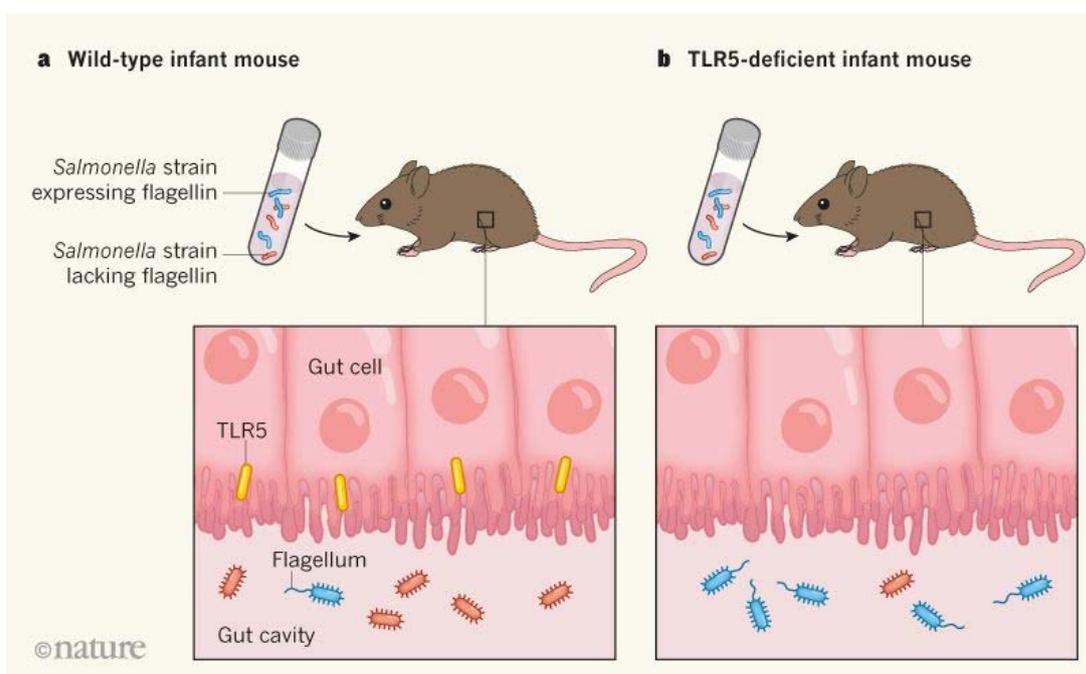
Neonatal selection by Toll-like receptor 5 influences long-term gut microbiota composition

Fulde M, Sommer F, Chassaing B, van Vorst K, Dupont A, Hensel M, Basic M, Klopffleisch R, Rosenstiel P, Bleich A, Bäckhed F, Gewirtz AT, Hornef MW. Nature 560:489-493, 2018

Toll-like receptor 5 による新生児期の選択は、長期に腸内細菌叢組成に影響する

腸内細菌叢の変化は、免疫性疾患及び代謝性疾患に深く関連している。これまでの報告により、糞便移植による実験によって、腸内細菌叢の変化が様々な疾患を改善することから、宿主における腸内細菌叢の重要性が示されている。出生直後の期間というものは、微生物細菌叢、宿主-微生物の相互作用および免疫恒常性に特に重要である。しかしながら、この新生児期の腸内細菌叢が構築されるメカニズムは不明である。

本論文では、新生児マウスの腸上皮におけるフラジェリン受容体 Toll 様受容体 5 (TLR5) の年齢依存的発現を示した。競合的コロニー形成実験を用いて、上皮 TLR5 による REG3 $\gamma$  産生が、鞭毛細菌のコロニー形成の対抗選択に重要であることを明らかにした。新生児および成熟野生型および Tlr5 欠損無菌マウスにおける微生物移入実験によって、新生児 TLR5 発現が生涯を通じて微生物の組成に強く影響することを明らかにした。したがって、成熟した宿主における有益な微生物叢は、初期の乳児期に形成されることが明らかとなった。本論文では、初期の新生児期にのみ作用し、その後長期間に渡り微生物の組成に影響を及ぼす宿主媒介性の腸内細菌叢構築メカニズムを報告した。



7. 2018年9月12日(水) 川原一郎 抄読

Resolving Macrophages Counter Osteolysis by Anabolic Actions on Bone Cells.

Viniegra A, Goldberg H, Çil Ç1 Fine N, Sheikh Z, Galli M, Freire M, Wang Y, Van Dyke TE, Glogauer M, Sima C

J Dent Res 97:1160-1169, 2018

**M1 と M2 マクロファージは炎症性骨吸収および再形成に大きな影響を与えている**

マクロファージには、炎症時に血流より急速大量に供給される M1 型と、組織に存在する肺泡マクロファージやクッパー細胞のような M2 型の 2 つに分類されている。

M1 型は炎症を誘発拡大するように働き、M2 型は炎症を鎮静し組織修復に働くとされている。今回、本研究ではマウス臼歯歯周炎を惹起し、出現したマクロファージの表現型から M1 型、M2 型のマクロファージの働きを検証した。歯周炎の誘発後 3 週間以内に M1 型炎症性マクロファージの活性化および TNF- $\alpha$  過剰産生が進行中の骨量減少と関連していた。刺激除去およびマクロファージ (IL-10、TGF- $\beta$ 、および CD206) の分解マーカーの 1 週間以内の活性化の進行は、骨のレベルと強く相関した。クロドロン酸リポソームによるインビボマクロファージ減少は、骨吸収を妨げたが、再生障害をももたらした。PPAR- $\gamma$  アゴニストであるロシグリタゾンによるマクロファージの誘導は、炎症刺激中の骨吸収の減少および治癒中の骨形成の増加をもたらした。IFN- $\gamma$  および LPS または IL-4 のいずれかで活性化された骨髄由来マクロファージの *in vitro* 実験では、IL-4 活性化細胞が抗炎症性サイトカインの産生が高く、分化誘導が高かった。シスタチン C は、骨芽細胞および破骨細胞に対するマクロファージの作用を部分的に解明した。この研究は、M1、M2 マクロファージの表現型の違いにより、炎症性疾患における骨の吸収および再形成に大きな影響を与えていることが明らかとなった。

8. 2018年9月19日(水) 吉田明弘抄読

Alpha-kinase 1 is a cytosolic innate immune receptor for bacterial ADP-heptose

Zhou P, She Y, Dong N, Li P, He H, Borio A, Wu Q, Lu S, Ding X, Cao Y, Xu Y, Gao W, Dong M, Ding J, Wang DC, Zamyatina A, Shao F.

Nature 561:122–126, 2018

**Alpha-kinase 1 は細菌 ADP-ヘプトースの細胞内自然免疫受容体である。**

PAMPs のパターン認識受容体による認識は炎症促進性 NF- $\kappa$ B シグナリングを活性化する。近年、細菌の代謝産物である D-glycero- $\beta$ -D-manno-heptose 1,7-bisphosphate (HBP) は宿主サイトゾルで NF- $\kappa$ B シグナリングを活性化することが示されている。しかし、HBP が本当の PAMP であるかは不明であり、パターン認識受容体は同定されていない。本研究ではエルシニアでトランスポゾンを用いたスクリーニングと生化学的解析を組合せ、ADP- $\beta$ -D-manno-heptose (ADP-Hep) をリガンドとして同定した。これは、III 型分泌装置依存的な NF- $\kappa$ B 活性化およびサイトカイン発現を調整している。

また、他のヘプトース代謝産物でなく ADP-Hep は宿主サイトゾルに侵入でき、NF- $\kappa$ B を活性化することができる。CRISPR-Cas9 スクリーニングにより ADP-Hep による NF- $\kappa$ B の活性化は ALPK1-TIFA axis が含まれることが示された。ADP-Hep は ALPK1 の N 末端に直接結合する。そのキナーゼドメインを刺激し、リン酸化し TIFA を活性化する。ALPK1 の N 末端と ADP-Hep 複合体の結晶構造はリガンド-受容体認識機構の原子メカニズムを明らかにした。HBP は宿主アデニルトランスフェラーゼにより ADP-heptose 7-P に変換される。ADP-heptose 7-P は ALPK1 を ADP-Hep よりも活性化できる。HBP でなく ADP-Hep 単独、あるいは細菌感染では Alpk1 依存性炎症をマウスに誘導できた。これらの結果から ALPK1 と ADP-Hep はそれぞれパターン認識受容体と免疫調整に作用することが明らかになった。

#### 9. 2018 年 9 月 19 日 (水) 小林泰浩 抄読

Thy-1 (CD90) promotes bone formation and protects against obesity.

Picke AK, Campbell GM, Blüher M, Krügel U, Schmidt FN, Tsourdi E, Winzer M, Rauner M, Vukicevic V, Busse B, Salbach-Hirsch J, Tuckermann JP, Simon JC, Andereg U, Hofbauer LC, Saalbach A.

Sci Transl Med 10:eaao6806, 2018

#### Thy-1 は骨形成を促進し、肥満を防ぐ

骨粗鬆症と肥満は、骨形成及び脂肪分化の障害を生じ、高齢化社会の問題となっている。間葉系由来の線維芽細胞における Thy-1 の調節の役割のために、我々は、骨形成および脂肪分化を振り分ける間葉系幹細胞の運命に対する Thy-1 の影響および生体内での骨形成および脂肪組織発生に対する影響を調べた。Thy-1 欠損マウス由来の MSC では、野生型マウス由来の MSC と比較して、骨芽細胞分化が低下し、脂肪分化が亢進した。その結果、Thy-1 欠損マウスは、皮質骨の多孔性の増加を伴って骨量および骨形成速度が低下し、骨強度が低下した。同時に、体重、皮下および生殖腺周囲の脂肪量、および骨髄脂肪量が増加した。Thy-1 欠損では、特異的 Wnt リガンドの発現減少を伴い、Wnt 阻害剤スクレロスチンおよび dickkopf-1 が、同時に増加し、変化した Wnt 応答性を伴った。骨粗鬆症における骨改造障害と肥満患者における異常な脂肪組織の蓄積は、血清 Thy-1 濃度の低下によって反映されることを示した。我々の発見は、骨形成と肥満の相互制御に関する新しい洞察を提供し、肥満および骨粗鬆症における脂肪生成および骨形成の異常調節を監視および妨害するための新しい視点を開く。

#### 10. 2018 年 9 月 26 日 (水) 上原俊介 抄読

Oxidation-specific epitopes restrain bone formation.

Ambrogini E, Que X, Wang S, Yamaguchi F, Weinstein RS, Tsimikas S, Manolagas SC, Witztum JL, Jilka RL.

Nat Commun 9:2193, 2018

### 酸化特異的エピトープは骨形成を抑制する

アテローム性動脈硬化症および骨粗鬆症は疫学的に関連しており、酸化されたリン脂質のフォスフォコリン (PC-OxPL) およびマロンジアルデヒド (MDA) などの酸化特異的エピトープ (OSE) は両疾患に対して病原性である。OSE のアテローム生成促進効果は自然免疫抗体により対抗される。ここでは、PC-OxPL を中和する IgM E06 の一本鎖可変領域断片 (E06-scFv) を発現するマウスにおいて、骨芽細胞数の増加と、骨形成を刺激することにより、高脂肪食(HFD)誘導性骨量減少が減弱することを示す。同様に、MDA を中和する IK17-scFv を発現しているマウスでも、HFD 誘発性骨量減少が減弱する。注目すべきことに、E06-scFv は、正常な食餌を与えたマウスにおいても骨量を増加させる。さらに、老齢マウスでは、抗 PC IgM のレベルが低下する。我々は、慢性的に産生されても、HFD によって増加しても、OSE は骨形成を抑制し、OSE に対する防御の減少が加齢に関連した骨量減少に寄与し得ると結論づける。したがって、抗 OSE は、骨粗鬆症及びアテローム性動脈硬化症に同時に対応する新規の治療アプローチを表し得る。

11. 2018 年 9 月 26 日 (水) 八上公利 抄読

Biological and osseointegration capabilities of hierarchically (meso-/micro-/nano-scale) roughened zirconia.

Rezaei NM, Hasegawa M, Ishijima M, Nakhaei K, Okubo T, Taniyama T, Ghassemi A, Tahsili T, Park W, Hirota M, Ogawa T.

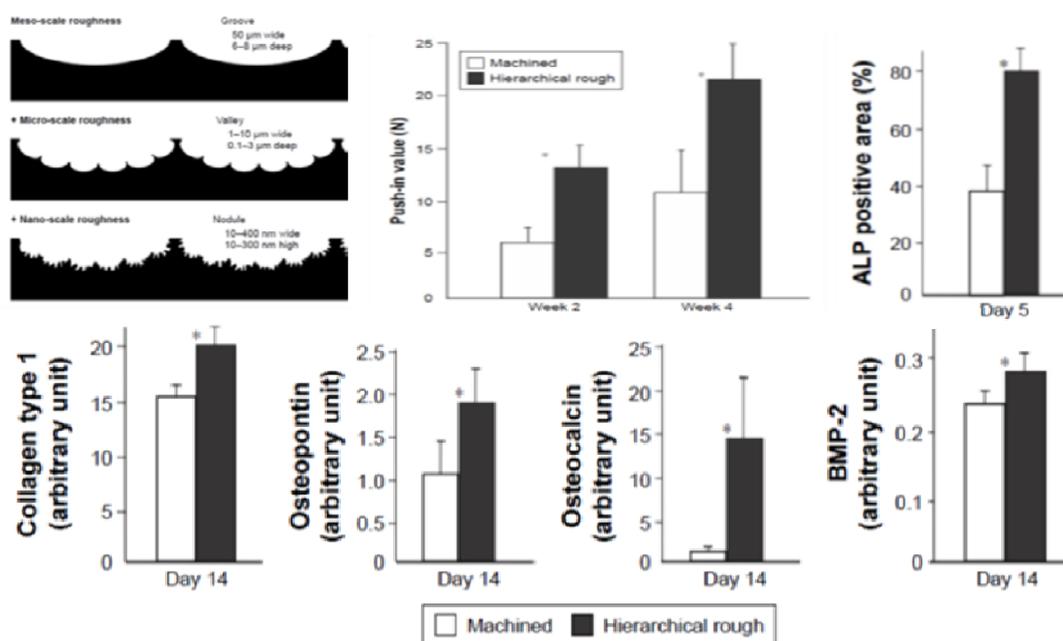
Int J Nanomedicine 13:3381–3395, 2018

### 階層的 (メソ/マイクロ/ナノスケール) の粗面化ジルコニアの生物学的およびオッセオインテグレーション能力

要旨 :

ジルコニアは、チタンに替わる人工生体材料として有効性が問われている。強度、色彩、衛生的である反面、加工困難、生体との接着などが劣っている。その問題を解決するために、メゾ、マイクロおよびナノ・スケールにおけるレーザー加工を施した表面性状に対する骨髄細胞の分化と、インプラント埋入試験について検証した。使用した使用ジルコニア材は、イットリア安定化正方晶ジルコニア多結晶体 (Y-TZP) で、レーザーエッチングと機械研磨により表面加工した。すなはち、メゾ (幅 50 $\mu$ m、深さ 6-8 $\mu$ m)、マイクロ (幅 1-10 $\mu$ m、深さ 0.1-3 $\mu$ m) とナノ (幅 10-400 ナノメートル、高さ 10-300 ナノメートル) の各スケール溝と機械研磨表面を作成した。これらの表面でラット骨髄由来骨芽細胞を培養したところ、アクチン染色による接着細胞の形態分析では、ナノ・レーザー加工面の方が培養開始 6 時間から細胞形態の伸展が見られた。また細胞は、50 $\mu$ m の溝に沿って義足を伸展していた。機械研磨およびナノ溝両表面における細胞密

度および細胞増殖能に有意な変化はなかった。骨芽細胞分化の変化では ALP 染色陽性細胞はナノ加工面が倍以上多かった。そして、I 型コラーゲン、オステオポンチン、オステオカルシン、BMP-2 など骨芽細胞マーカー遺伝子すべてにおいてナノレーザー加工面が有意に上昇していた。ラット大腿骨埋入実験で、押し込み試験による生物力学的検証では、ナノ加工面では 2 週目から機械やマクロ加工面の 202 倍の強度を持っていた。また、引き抜き試験後のインプラント表面の性状について EDX で調べたところ、機械やマクロ加工面に比べてナノ・レーザー加工面において Ca および P の存在が多かった。特に、加工面の溝に沿って Ca の蓄積と骨組織構築が見られた。これらの結果より、既存表面のジルコニアと異なりナノ・スケール溝を持った表面形状のジルコニアは、インプラントの新しい材料として使用可能であることが示された。



12. 2018 年 10 月 3 日 (水) 荒井 敦 抄読

PGC-1 $\alpha$  Controls Skeletal Stem Cell Fate and Bone-Fat Balance in Osteoporosis and Skeletal Aging by Inducing TAZ.

Yu B, Huo L, Liu Y, Deng P, Szymanski J, Li J, Luo X, Hong C, Lin J, Wang CY.

Cell Stem Cell 23:193–209, 2018

PGC-1 $\alpha$  は、TAZ 誘発による骨粗鬆症および骨格老化における骨格幹細胞の運命および骨 - 脂肪バランスを制御する

骨格幹細胞 (SSC) の異常は、骨粗鬆症および骨格老化における骨量の減少および骨髄脂肪組織 (MAT) の増加の原因となる。骨芽細胞および脂肪細胞への分化を司るマスターレギュレーターが同定されているが、MAT 蓄積および骨粗鬆症性骨量減少に関連す

る因子についてはほとんど知られていない。本研究では、ヒトおよびマウスの SSC の老化とともに発現が減少する細胞運命決定の重要なスイッチとして、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体  $\gamma$  共活性化因子 1- $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) を同定した。PGC-1 $\alpha$  の喪失は、骨芽細胞分化を抑制してマウス SSC の脂肪細胞分化を促進した。SSC における PGC-1 $\alpha$  の欠失は、骨形成が減少、間接的に骨吸収を促進する一方で MAT 蓄積を促進する。逆に、PGC-1 $\alpha$  の誘導は、骨粗鬆症の骨量減少および MAT 蓄積を減弱させた。これらの現象のメカニズムとして、PGC-1 $\alpha$  は TAZ を誘導することによって骨と脂肪のバランスを維持することを解明した。本研究の結果は、PGC-1 $\alpha$  が骨粗鬆症および骨格老化の治療において潜在的に重要な治療標的であることを示唆している。

13. 2018 年 10 月 3 日 (水) 村上康平 抄読

Discovery of a periosteal stem cell mediating intramembranous bone formation

Debnath S, Yallowitz AR, McCormick J, Lalani S, Zhang T, Xu R, Li N, Liu Y, Yang YS, Eiseman M, Shim JH, Hameed M, Healey JH, Bostrom MP, Landau DA, Greenblatt MB. Nature 562:133-139, 2018

#### 骨膜幹細胞を介した膜内骨化の発見

骨は、皮質骨によって物理的に骨内膜と骨外膜に分けられ、それぞれが生理作用を有し、別々の細胞プールを維持する。骨内膜に由来する骨格幹細胞は広範囲に研究されている。しかし、骨膜幹細胞は未だに同定されていない。著者らは、マウスの長管骨と頭蓋冠に存在し、クローン性多分化能および自己再生を示し、分化階層の頂点に座っている骨膜幹細胞(PSC)を同定した。単一細胞および細胞集団の転写プロファイリングによると、PSC は他の骨格幹細胞および成熟間葉細胞のものとは異なる特徴を有する。他の骨格幹細胞は軟骨内骨化によって骨を形成するが、PSC は直接膜内骨化によって骨を形成する。一方で、PSC は傷害にตอบสนองして軟骨内骨化を行う能力を獲得することから、この区分には可塑性があることも判明した。骨芽細胞への分化に必須の転写因子を PSC において遺伝的に遮断すると、皮質骨構造で障害がみられ、骨折治癒に異常をきたす。さらに、マウス PSC に類似した細胞はヒト骨膜に存在することから、PSC が骨格障害に対する薬物および細胞療法の魅力的な標的である可能性がある。本論文は、骨が幹細胞の複数のプールを含み、それぞれ異なる生理学的機能を有するという証拠を提供する。

14. 2018 年 10 月 10 日 (水) 堀部 寛治 抄読

An experimental murine model to study periodontitis

Marchesan J, Girnary MS, Jing L, Miao MZ, Zhang S, Sun L, Morelli T, Schoenfish MH, Inohara N, Offenbacher S, Jiao Y.

Nat Protoc 13:2247-2267, 2018

#### 歯周炎研究のための新たなマウス実験モデル

歯周病（PD）は、口腔微生物と宿主免疫との間の相互作用が関連する一般的な歯科疾患であり、歯肉組織、歯根膜、セメント質および歯槽骨の喪失が発生する。PDは、成人集団における歯の損失の主な要因である。実験動物による再現モデルはPD病因の研究を可能にし、疾患を治療するための新しい治療アプローチを試験するために使用される。絹糸の結紮で誘発された歯周炎モデルは、急速な疾患誘発、予測可能な骨量減少などから歯周組織および歯槽骨再生を研究する手法として、他の歯周病モデルと比べていくつかの利点を有する。マウスは研究に使用される最も便利で多様な動物モデルであるが、結紮誘発歯周炎は大型動物でより頻繁に使用されている。これは主に、マウスの体が小さいため歯周組織への絹糸結紮は実験手技の難易度が高いことに起因する。これまでの結紮モデルにおける技術的課題を軽減するため、筆者らは3Dプリンターでマウス用に形成した器具によるより簡便な絹糸結紮モデルを開発した。この実験手法では、結紮糸を配置するための器具の設計図と、詳細な実験手順を説明し、結紮後18日に歯肉組織の炎症および歯槽骨の損失状態を示した。この歯周病モデルは、歯周炎におけるヒト口腔細菌の役割を調べるために無菌マウスにも応用することができる。結論として、この実験手法は、インビボでの歯周炎の病因メカニズム研究をより簡便に行うことを可能とする。

15. 2018年10月10日（水）山下照仁 抄読

Piezo type mechanosensitive ion channel component 1 functions as a regulator of the cell fate determination of mesenchymal stem cells.

Sugimoto A, Miyazaki A, Kawarabayashi K, Shono M, Akazawa Y, Hasegawa T, Ueda-Yamaguchi K, Kitamura T, Yoshizaki K, Fukumoto S, Iwamoto T.

Sci Rep 7:17696, 2017

[PIEZO型機械感受性イオンチャネル成分1（PIEZO1）は、間葉系幹細胞の運命決定の制御因子として機能する](#)

細胞外環境は細胞の動的挙動を調節する。しかし、間葉系幹細胞（MSC）の細胞運命決定に及ぼす静水圧の影響は解明されていない。本研究は、静水圧を制御する細胞培養チャンバーを作成し、静水圧による骨芽細胞分化の促進が、MSCにおけるピエゾ型機械感受性イオンチャネル成分1（PIEZO1）によって調節される骨形成タンパク質2

（BMP2）の発現に依存することを見出した。初代培養MSCおよび不死化MSC株であるUE7T-13やSDP11に静水圧を負荷した後、PIEZO1が発現誘導された。PIEZO1作動薬Yoda1および静水圧は、BMP2発現と骨芽細胞分化を促進し、脂肪細胞への分化を抑制した。逆に、PIEZO1阻害は、骨芽細胞分化およびBMP2発現を減少させた。さらに、BMP阻害因子NogginによるBMP2機能の遮断は、静水圧誘発性の骨形成マーカー遺伝子発現を阻害した。さらに、メダカを用いたin vivoモデルにおいて、静水圧負荷は尾ヒレの発生を促進したが、GsMTx4を用いたPIEZO1の阻害はその発生を

抑制した。以上の結果より、PIEZO1 が、静水圧の感知に関与し BMP2 発現を調節することによって MSC の細胞運命の制御因子として機能することが示唆された。

16. 2018年10月17日（水）中村浩彰 抄読

Small-molecule Wnt agonists correct cleft palates in Pax9 mutant mice in utero.

Jia S, Zhou J, Fanelli C, Wee Y, Bonds J, Schneider P, Mues G and D'Souza RN.

Development 144:3819-3828, 2017

Pax9欠損マウスの口蓋裂は低分子Wnt agonistを妊娠マウスに投与することによりレスキューできる

口蓋裂は頭蓋顔面奇形であり、その発症には複数の遺伝的および環境要因が関与している。本論文はPax9<sup>-/-</sup> マウスでみられる口蓋裂がWntアゴニストである低分子化合物を妊娠マウスに投与することにより、レスキューできたことを報告したものである。

著者らはPax9<sup>+/-</sup>とPax9<sup>-/-</sup>の口蓋突起のmRNAをRNAシーケンスとquantitative RT-PCR解析し、Pax9<sup>-/-</sup>の口蓋突起ではWntシグナル伝達の阻害タンパク質であるDkk1、2が上昇していることを明らかにした。また、E13.5のPax9<sup>-/-</sup>マウスの口蓋突起においてもDkk1、2発現上昇がみられることをin vivoで確認している。次に、Pax9<sup>-/-</sup> Dkk1<sup>fl/+</sup>; Wnt1Creマウスを用いて、頭部神経堤細胞でDkk1を欠損させたところ口蓋裂発症がレスキューできたことから、Pax9-dependent Wnt signal が口蓋形成に重要であると推測した。そこで、Dkk阻害剤である低分子化合物（WAY-262611）を妊娠Pax9<sup>+/-</sup>マウスに投与したところ、生まれてくるPax9<sup>-/-</sup>マウスの口蓋裂発症がレスキューできた。また、WAY-262611投与したマウスの口蓋突起の後方部でWntシグナルが活性化していることをPax9<sup>+/-</sup>;BAT-Galマウスで確認している。以上のことから、Dkk阻害剤であるWAY-262611投与によりWnt- $\beta$ -カテニンシグナルが活性化され、口蓋突起の間葉系幹細胞の増殖と骨芽細胞への分化を促進して、口蓋裂発症がレスキューできたと考察している。しかしながら、Pax9<sup>+/-</sup>でみられる歯、副甲状腺、胸腺の欠損、過剰な指はWAY-262611投与ではレスキューできなかったことから、これらの器官発生にはWnt- $\beta$ -カテニン以外のシグナルが拘っていると考えている。

著者らは同腹マウスは18ヶ月まで生き、腫瘍形成も生じなかったことから、口蓋裂の発症前診断と治療についてもふれているが、臨床応用については慎重に進めなければならないと思われる。

17. 2018年10月17日（水）小出雅則 抄読

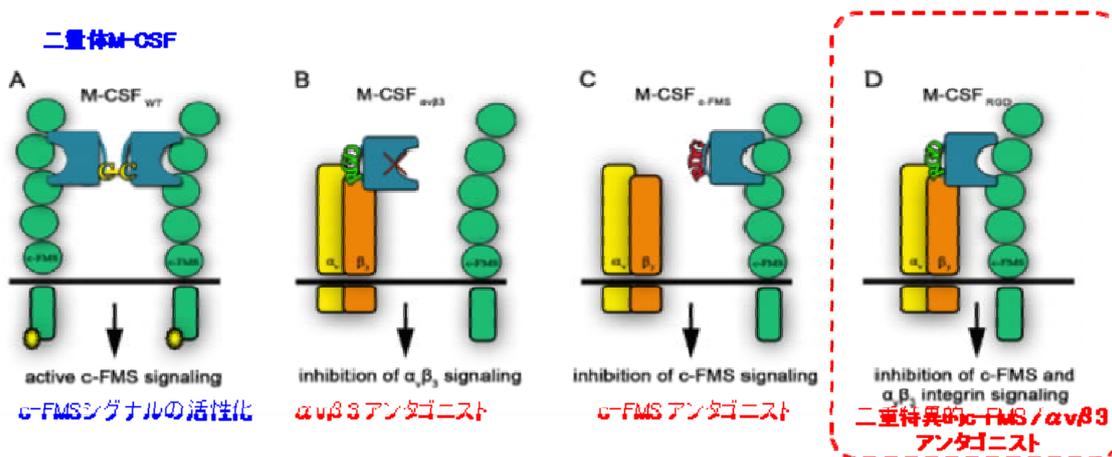
A dual-specific macrophage colonystimulating factor antagonist of c-FMS and  $\alpha\beta3$  integrin for osteoporosis therapy.

Zur Y, Rosenfeld L, Keshelman CA, Dalal N, Guterman-Ram G, Orenbuch A, Einav Y, Levaot N, Papo N.

骨粗鬆症治療を目指した c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンに対する二重特異的な M-CSF アンタゴニスト

骨粗鬆症に対する高効率かつ特異的な治療薬が求められている。著者らは、破骨細胞による骨吸収の促進に作用する c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンの両方を同時に標的とする、二重特異的阻害剤を設計した。c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンに対するランダム突然変異体ライブラリーを作製して、酵母表面ディスプレイ法を用いて選別した。c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンの両方に対して高い親和性を有する二重特異的アンタゴニストを見出した。これらの二重特異的アンタゴニストは、c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンの活性化、in vitro の破骨細胞分化と活性化および in vivo の骨吸収を阻害した。これらの結果は、破骨細胞機能に不可欠なシグナルである c-FMS と  $\alpha v \beta 3$  インテグリンの両方を阻害する方法を提供した。この研究は、標的タンパク質だけでなく第 2 の標的と結合するための足場として、天然のリガンドを応用した最初の報告である。今後、天然のリガンドを足場とする特異的阻害剤の開発が期待される。

c-FMS /  $\alpha v \beta 3$  インテグリンに対するアンタゴニストの概略図



19. 2018年10月24日（水） 小林泰浩 抄読

Identification of the Human Skeletal Stem Cell.

Chan CKF, Gulati GS, Sinha R, Tompkins JV, Lopez M, Carter AC, Ransom RC, Reinisch A, Wearda T, Murphy M, Brewer RE, Koepke LS, Marecic O, Manjunath A, Seo EY, Leavitt T, Lu WJ, Nguyen A, Conley SD, Salhotra A, Ambrosi TH, Borrelli MR, Siebel T, Chan K, Schallmoser K, Seita J, Sahoo D, Goodnough H, Bishop J, Gardner M, Majeti R, Wan DC, Goodman S, Weissman IL, Chang HY, Longaker MT.

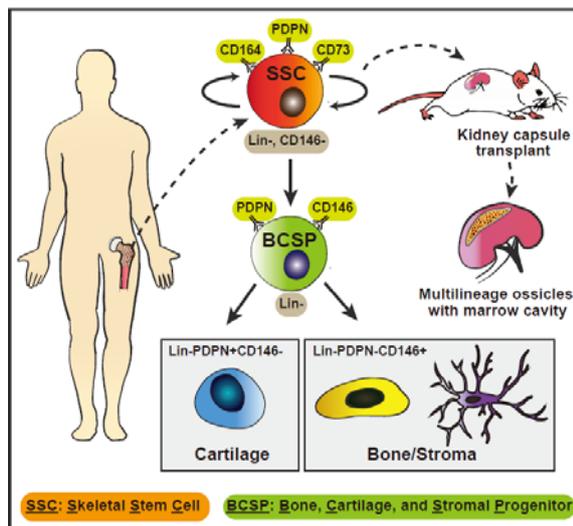
Cell 175:43-56, 2018

ヒト骨格幹細胞の同定

ヒト骨格前駆細胞の幹細胞制御機構および階層的組織は、ほとんど未解明のままである。

ここでは、骨、軟骨、および間質の前駆細胞を生成するが、脂肪は産生しない自己複製能と多分化能をもったヒト骨格幹細胞 (hSSC) の単離を報告する。自己再生能および多能性を持った hSSC は、胎児および成人の骨に存在し、BMP2 処理ヒト脂肪ストローマ (B-HAS) および誘導多能性幹細胞

(iPSC) から誘導することもできる。個々の hSSC の遺伝子発現分析は、異なる供給源から得られた hSSC 間の全体的な類似性を明らかにし、胎児および iPSC 由来の hSSC における軟骨への偏った分化を部分的に説明する。hSSC は、骨格損傷に応答して局所において増殖する。さらに、hSSC 由来間質細胞は、無血清培養条件下でヒト造血幹細胞 (hHSC) を維持することができる。最後に、マウス骨格幹細胞 (mSSC) および hSSC の遺伝子発現およびエピジェネティックデータを組み合わせ、SSC が関与する骨格形成を駆動する進化的に保存されたまたは進化的に異なった経路を同定した。



19. 2018 年 10 月 24 日 (水) 平賀徹 抄読

A homing system targets therapeutic T cells to brain cancer.

Heba Samaha, Antonella Pignata, Kristen Fousek, Jun Ren, Fong W. Lam, Fabio Stossi, Julien Dubrulle, Vita S. Salsman, Shanmugarajan Krishnan, Sung-Ha Hong, Matthew L. Baker, Ankita Shree, Ahmed Z. Gad, Thomas Shum, Dai Fukumura, Tiara T. Byrd, Malini Mukherjee, Sean P. Marrelli, Jordan S. Orange, Sujith K. Joseph, Poul H. Sorensen, Michael D. Taylor, Meenakshi Hegde, Maksim Mamonkin, Rakesh K. Jain, Shahenda El-Naggar & Nabil Ahmed

Nature 561: 331-337, 2018

#### 治療用 T 細胞を脳腫瘍へ向かわせるホーミングシステム

脳腫瘍の T 細胞免疫療法を成功させるには、T 細胞を腫瘍組織へ到達させることが必要だが、その実現は困難であった。本論文では、血管内皮細胞が ICAM1 や VCAM1 の発現を上昇させて炎症促進性細胞の血管管外遊出を誘導する多発性硬化症のような炎症性脳疾患とは対照的に、がんの血管内皮細胞はこれらの分子の発現を低下させて、免疫認識を回避することを示す。一方、がん血管内皮では ALCAM (activated leukocyte cell adhesion molecule) の発現が上昇しており、ALCAM 限定的なホーミング系 (HS) を作製すれば、がんの免疫回避機構を克服できることが分かった。我々は、ALCAM の天然リガンドである CD6 を再設計した。これにより T 細胞の ALCAM への最初の足場形

成が引き起こされ、がん内皮細胞上の低レベル ICAM1 に対する T 細胞の感受性が高まり、その結果、血流から T 細胞を捉えるために必要な接着力が生まれる。細胞毒性 HS T 細胞は、静脈内注射後に脳腫瘍へ確実に浸潤し、強力な抗腫瘍活性を示した。以上より、我々は脳腫瘍への T 細胞の送達を標的とする分子を開発した。