

2018年4月6日-2018年7月20日

Bone Clubs 紹介論文リスト

1. Bone Res 6:5, 2018

GF-I が誘導する PTH 受容体のリン酸化は、骨芽細胞から骨細胞への移行を促進する

2. J Dent Res 96:909-916, 2017

歯根膜は骨切除後の治癒とインプラントのオッセオインテグレーションに貢献する

3. J Dent Res 97:987-994, 2018

抜歯後即時インプラントのオッセオインテグレーション獲得の生体力学

4. Cell Death Differ doi: 10.1038/s41418-017-0049-4, 2018

TSC1 は mTORC1 と Rac1/Cdc42 を介して破骨細胞のポドソーム構成と骨吸収を制御する

5. Nat Med 2018 24:262-270, 2018

DKK2 は、細胞傷害性免疫細胞活性化の  $\beta$ -カテニン非依存的抑制を介して腫瘍免疫回避を付与する

6. J Dent Res 97:803-809, 2018

Wnt 応答性の歯根膜細胞群は抜歯窩の治癒に効果的である

7. Sci Rep 7:6630, 2017

骨基質成分は、NLRP3 インフラマソームを活性化して、破骨細胞分化を促進する

8. Hum Mol Genet 27:1-13, 2018

恒常活性型 FGFR3 は、様々な軟骨無形成症モデルの一次繊毛の長さを短縮させ、IFT20 の輸送を破壊する

9. Hum Mol Genet 27:1093-1105, 2018

線維芽細胞増殖因子シグナル伝達による一次繊毛機能の調節は、FGFR3 関連疾患である軟骨無形成症と致死性骨異形成症が一次繊毛の疾患であることを示す

10. Cell Death Dis 9:480, 2018

HDAC9 と miR-17 間の相互阻害は、炎症状態におけるヒト歯根膜幹細胞の骨形成を調節する

11. Mol Cell 67:566-578, 2017

- Myc は B 細胞の活性化においてクロマチンの脱凝集と核構造を調節する
12. Genes Cells 23:264-273, 2018  
Aggregatibacter actinomycetemcomitans 感染は、宿主細胞において DNA 二本鎖切断を引き起こす
  13. J Cell Biochem 119:5481-5490, 2018  
HMGB1 誘発性炎症応答は、マウスの抜歯窩の骨治癒を促進する
  14. Sci Rep 4:6836, 2014  
哺乳類の小胞型ポリアミン輸送体の同定
  15. Science 360:106-110, 2018  
肝臓由来のトロンボポエチンは、骨髄造血幹細胞の維持に必要である
  16. Int J Biol Sci 14:508-517, 2018  
DNA 損傷チェックポイント経路は、PTH 関連ペプチドによる骨格成長や骨形成を調節する
  17. Nat Med 24:667-678, 2018  
骨損失の同化療法としてのスフィンゴシン-1-リン酸リアーゼの標的化
  18. Immunity 48:1208-1219, 2018  
RANKL は自然リンパ球グループ 3 のエフェクターサイトカイン産生を抑制する
  19. J Bone Miner Res doi: 10.1002/jbmr.3477, 2018  
Folliculin は、酸化的リン酸化とプリン代謝を介して破骨細胞分化を制御する
  20. J Dent Res doi: 10.1177/0022034518771331, 2018  
歯の矯正移動における SOST/Sclerostin を介した骨細胞-歯根膜細胞クロストークの役割
  21. Histochem Cell Biol 149:383-391, 2018  
ネスチン発現は、マウスの象牙芽細胞層とサブ象牙芽細胞層とで異なって調節される
  22. J Biol Chem 284:35987-35995, 2009  
TNF $\alpha$  は NF- $\kappa$ B の活性化を介して Smads の DNA 結合を阻害することにより、BMP シグナル伝達を抑制する
  23. Mol Endocrinol 28:1460-1470. 2014  
NF- $\kappa$ B p65 サブユニットは、Smad4 との相互作用を介して BMP2 誘導性骨形成を阻害する

24. J Cell Physiol 233:7356-7366, 2018

NF- $\kappa$ Bp65 サブユニットと Smad4 の相互作用を遮断するペプチドは、BMP2 誘導骨形成を促進する

25. J Cell Physiol 233:7497-7513, 2018

トランスグルタミナーゼ活性は、アクチンダイナミクスを介して破骨細胞の分化、移動及び融合を調節する

26. Int J Mol Sci 19:1997, 2018

老化は、翻訳機構および生物エネルギーの恒常性を阻害することによって、内皮前駆細胞および骨芽細胞における機能不全を誘発する

27. Cancer Cell 33:463-479, 2018

ヒト乳癌における線維芽細胞の異種性と免疫抑制性環境

1. 2018年4月6日(金) 山下照仁 抄読

IGF-I induced phosphorylation of PTH receptor enhances osteoblast to osteocyte transition.

Qiu T, Crane JL, Xie L, Xian L, Xie H, Cao X.

Bone Res 6:5, 2018

IGF-Iが誘導するPTH受容体のリン酸化は、骨芽細胞から骨細胞への移行を促進する  
副甲状腺ホルモン（PTH）は、骨芽細胞/骨細胞のPTH I型受容体（PTH1R）を活性化することによって骨リモデリングを調節する。インスリン様成長因子1型（IGF-I）は、間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化を促進する。しかしながら、骨芽細胞から骨細胞への移行を調節するシグナル伝達機構についてはほとんど知られていない。本研究は、PTHとIGF-Iが骨芽細胞と骨細胞の分化を相乗的に増強することを報告する。著者らは、PTH1Rの細胞質ドメイン上の特定のチロシン残基Y494が、インスリン様増殖因子I型受容体（IGF1R）によってインビトロでリン酸化され得ることを示した。リン酸化されたPTH1Rは、アクチンフィラメントの樹状突起末端に局在し、骨芽細胞が骨細胞に形態変化する際にアクチン重合を増加させた。リン酸化部位の破壊は、アクチン重合および樹状突起の長さを減少させた。野生型マウス頭蓋冠の骨細胞において、樹状突起におけるPTH1Rとリン酸化PTH1Rの局在は完全に一致した。PTH1Rを骨芽細胞特異的に欠損するマウスでは、骨形成の低下および骨細胞あたりの樹状突起の数の減少を示した。したがって、IGF1RによるPTH1Rの直接リン酸化が骨芽細胞から骨細胞への移行を促進するという新規シグナル伝達機構が明らかになった。

2. 2018年4月13日(金) 高橋直之 抄読

Contribution of the PDL to Osteotomy Repair and Implant Osseointegration.

Pei X, Wang L, Chen C, Yuan X, Wan Q, Helms JA.

J Dent Res 96:909-916, 2017

歯根膜は骨切除後の治癒とインプラントのオッセオインテグレーションに貢献する

本研究の目的は、抜歯後にソケットに保持された歯周靭帯（PDL）の運命を明らかにし、その後、この組織が抜歯ソケットに埋入された「即時」インプラントのオッセオインテグレーションに寄与しているかを判断することである。マウスは上顎第一大臼歯の抜歯後、PDL 残留物（残滓）は骨切除術により除去され、チタンインプラントが配置された。頬骨、近心、および遠位の表面がPDL 残滓を保持している一方で、口蓋側にPDL 残滓

がないように骨切除術を行った。手術後の複数の時点で、組織を、分子、細胞、及び組織形態計測の一連の手法を用いて分析した。我々は、PDL 残滓が抜歯部位における新しい骨形成に直接寄与することを見出した。PDL が骨切除術によって除去された部位と比較して、PDL 残滓を保持する領域は、多くの新しい骨を生成した。即時埋入インプラントの周りでは、保持された PDL は新しい骨形成およびオッセオインテグレーションに貢献した。したがって、我々は PDL 残滓が本質的に骨形成性であると結論する。PDL 組織が健全であれば、インプラントを埋入する前に抜歯ソケットを搔爬することは避けなければならないと考えられる。この推奨事項は、抜歯後のソケットの侵襲外科手術操作を最小にして、即時インプラント埋入を行うという現代の傾向と一致する。

### 3. 2018 年 4 月 13 日(金) 高橋直之 抄読

Biomechanics of Immediate Post-extraction Implant Osseointegration.

Yuan X, Pei X, Zhao Y, Li Z, Chen CH, Tulu US, Liu B, Van Brunt LA, Brunski JB, Helms JA.

J Dent Res 97:987-994, 2018

#### 抜歯後即時インプラントのオッセオインテグレーション獲得の生体力学

本研究は、抜歯後即時インプラント埋入がどのようにオッセオインテグレーションを獲得するか、その生物学および機構を調べることを目的とした。臨床を模倣するために、ネズミの最初の大臼歯抜歯後に、骨切除術部位の調製を行った。骨切除術は、ソケットの口蓋側面の歯周靭帯（PDL）を除去し、頬側の PDL は切除しないように行った。この方法により、2つの異なるインプラント周囲環境を創出した：(1)口蓋側面では、インプラントは顎骨と直接接触し、(2)頬側ではインプラントと顎骨との間に PDL が存在した。有限要素解析より、骨がインプラントによって圧縮された口蓋面で高い歪みを示した。口蓋側では、骨細胞死および骨吸収は優勢であり、インプラント周囲の骨喪失をもたらした。頬側では、有限要素解析によって低い歪みが明らかにされた。頬側では、骨細胞の死は少なく、インプラント周囲の骨形成は堅牢であった。当初、頬側は PDL 残存物で満たされていたが、これは新たな骨形成を担う Wnt 応答性細胞が残存 PDL より直接提供されることがわかった。PDL および Wnt 応答性細胞を欠いた口蓋側では、外因性リポソーム WNT3A を添加すると、迅速な骨形成環境が作り出された。したがって、低い歪みおよび高 Wnt シグナル伝達が、抜歯後即時埋入インプラントのオッセオインテグレーションに有利であると結論された。以上より、PDL は骨形成に関わる Wnt 応

答性細胞を有しており、PDL 組織が健全であれば、PDL 組織を保存し、インプラント即時埋入するのが妥当であることが示された。

#### 4. 2018 年 4 月 13 日(金) 上原俊介 抄読

TSC1 regulates osteoclast podosome organization and bone resorption through mTORC1 and Rac1/Cdc42.

Xu S, Zhang Y, Wang J, Li K, Tan K, Liang K, Shen J, Cai D, Jin D, Li M, Xiao G, Xu J, Jiang Y, Bai X.

Cell Death Differ doi: 10.1038/s41418-017-0049-4. [Epub ahead of print], 2018

[TSC1 は mTORC1 と Rac1/Cdc42 を介して破骨細胞のポドソーム構成と骨吸収を制御する](#)

シーリングゾーンへのポドソームの再編成は、破骨細胞 (OCL) が骨を再吸収するために重要であるが、基礎をなす機構は不明である。ここでは、結節性硬化症複合体 1 (TSC1) が、OCL において中心的に機能して、ラパマイシンの標的複合体 1 (mTORC1) および低分子量 GTP アーゼ Rac1 / Cdc42 を介する機構でポドソーム組織化および骨吸収を促進することを示す。破骨細胞形成に伴い増大する TSC1 の発現は、mTORC1 活性を低下させる。OCL における TSC1 欠失は、インビトロでのポドソームベルト形成および骨吸収活性を減少させた。破骨細胞特異的 TSC1 欠損マウスは、破骨細胞のシーリングゾーン形成と骨吸収活性の減少により、大理石骨病を呈した。その機構として、TSC1 は、Rac1 / Cdc42 の mTORC1 依存性フィードバック阻害を解放することによって、ポドソーム構造の集合を促進した。ラパマイシンおよび活性型 Rac1 / Cdc42 は、ポドソーム構成および骨吸収を回復させ、破骨細胞特異的 TSC1 欠損マウスの大理石骨病様表現型を緩和する。私たちの発見は、骨吸収の調節における TSC1 シグナル伝達の不可欠な役割を明らかにする。TSC1 を標的とすることは、骨吸収を阻害し、骨量減少関連疾患を予防するための新規な戦略である。

#### 5. 2018 年 4 月 20 日(金) 吉田和薫, 小林泰浩 抄読

DKK2 imparts tumor immunity evasion through  $\beta$ -catenin-independent suppression of cytotoxic immune-cell activation.

Xiao Q, Wu J, Wang WJ, Chen S, Zheng Y, Yu X, Meeth K, Sahraei M, Bothwell ALM, Chen L, Bosenberg M, Chen J, Sexl V, Sun L, Li L, Tang W, Wu D.

Nat Med 2018 24:262-270, 2018

### DKK2 は、細胞傷害性免疫細胞活性化の $\beta$ -カテニン非依存的抑制を介して腫瘍免疫回避を付与する

免疫療法はがん治療の新しい選択肢だが、がんの種類によって効果は異なる。直腸がん (CRCs) は免疫チェックポイント阻害薬に強い抵抗性を持つが、それはいまだに解明されていない免疫抑制機構の存在を示唆している。我々は腸の腫瘍細胞の APC (adenomatous polyposis coli) とメラノーマの PTEN (がん抑制遺伝子) を欠損させると、DKK2 とそのレセプターである LRP5 の発現が上昇し、腫瘍の免疫回避の新たな機序となることを見出した。腫瘍から分泌された DKK2 は、LRP5 を介した STAT5 の核移行を妨げることで STAT5 シグナルを阻害し、細胞障害性リンパ球に作用するが、LRP6 や  $\beta$  カテニン経路とは独立していた。遺伝的もしくは交代で DKK2 を消失させると、腫瘍中に NK 細胞や CD8+T 細胞を活性化し、腫瘍の増殖を抑制し、PD-1 阻害の効果を増強させた。つまり、われわれは未知の腫瘍の免疫抑制機序と、特に CRCs と一部のメラノーマにおける治療標的を同定した。

6. 2018 年 4 月 20 日(金) 松下雅衣 抄読

A Wnt-Responsive PDL Population Effectuates Extraction Socket Healing.

Yuan X, Pei X, Zhao Y, Tulu US, Liu B, Helms JA.

J Dent Res 97:803-809, 2018

### Wnt 応答性の歯根膜細胞群は抜歯窩の治癒に効果的である

歯周靭帯 (PDL) に存在する幹細胞は歯周組織の恒常性を支持しているが、それらのインビボの同一性、供給源および機能はほとんど理解されていないままである。ここでは、系統追跡マウス株を使用して、歯の抜歯に応答して活性化される、PDL 内の静止した Wnt 応答性集団を同定した。Wnt 応答性の集団は、増殖によって拡大し、歯槽骨に付着したまま残っている PDL 残留物から抜歯窩に移動した。ワクチン接種後の Wnt 応答性の集団の子孫は、骨形成タンパク質発現を上方制御し、骨芽細胞に分化し、抜歯窩を治癒させる新しい骨を生成した。リポソーム WNT3A タンパク質治療剤を使用して、抜歯時の単一適用が抽出ソケット治癒を 2 倍に加速するのに十分であることを示した。これらのデータは、歯の除去後の歯槽骨の治癒に直接関与する、歯周組織における新しい幹細胞集団を同定する。

7. 2018年4月27日(金) 尾崎友輝 抄読

Bone matrix components activate the NLRP3 inflammasome and promote osteoclast differentiation.

Alippe Y, Wang C, Ricci B, Xiao J, Qu C, Zou W, Novack DV, Abu-Amer Y, Civitelli R, Mbalaviele G.

Sci Rep 7:6630, 2017

**骨基質成分は、NLRP3 インフラマソームを活性化して、破骨細胞分化を促進する**

NLRP3 インフラマソームは、結晶微粒子または細胞外基質の分解産物によって誘発されるものを含む、危険関連分子パターン (DAMP) と呼ばれる様々なシグナルを感知する。DAMP はインフラマソームの組織特異的に活性化するため、我々は骨基質成分が NLRP3 インフラマソームの DAMP として機能し、破骨細胞分化を調節するという仮説を検証した。骨粒子は実際に、RANKL 存在下で破骨細胞形成を引き起こした。骨のホメオスタシスに対するこれらの知見の関連性を判定するために、エストロゲン欠乏マウスや、副甲状腺ホルモンまたは RANKL 連続投与マウスを用いて、Nlrp3 欠損が骨に及ぼす影響を研究した。ホルモンまたは RANKL 摂取によって引き起こされる骨量減少は、野生型マウスよりも Nlrp3 欠損で有意に減少した。骨溶解により骨基質から DAMP を放出するという考えと一致して、ゾレドロンートによる骨吸収の阻害は、マウスにおいてインフラマソーム活性化を弱めた。したがって、骨基質に由来するシグナルは、破骨細胞系において NLRP3 インフラマソームを活性化し、骨代謝高回転状態において骨吸収を促進する正のフィードバック機構を示した。

8. 2018年4月27日(金) 村上康平 抄読

Constitutively-active FGFR3 disrupts primary cilium length and IFT20 trafficking in various chondrocyte models of achondroplasia.

Martin L, Kaci N, Estibals V, Goudin N, Garfa-Traore M, Benoist-Lassel C, Dambroise E, Legeai-Mallet L.

Hum Mol Genet 27:1-13, 2018

**恒常活性型 FGFR3 は、様々な軟骨無形成症モデルの一次繊毛の長さを短縮させ、IFT20 の輸送を破壊する**

線維芽細胞増殖因子受容体 3 (FGFR3) 機能獲得型変異は、軟骨無形成症 (ACH) および致死性骨異形成症 (TD) など小人症を引き起こす。FGFR3 の恒常的な活性化は、



骨格成長の正常な過程を崩壊させる。骨の成長異常は、一次繊毛機能が破壊された繊毛虫で同定されている。しかし、ヒト ACH および TD では、増殖板軟骨における FGFR3 変異の影響は未知のままである。ここで著者らは、ヒト (ACH、TD) およびマウス *Fgfr3<sup>Y367C/+</sup>* の軟骨細胞において、恒常活性型 FGFR3 が一次繊毛を短縮させ、輸送タンパク IFT20 の輸送を阻害することを示した。著者らは、FGFR 阻害剤 PD173074 で FGFR3 を阻害すると、一次繊毛の長さや IFT20 の障害を回復させることを示した。さらに、mTOR 経路の阻害剤であるラパマイシンもまた、一次繊毛の長さおよび IFT20 の障害を回復させた。本論文は、FGFR3 の異常に関連した小人症でみられる成長板の異常は一次繊毛機能の喪失によるものであり、これらの小人症は一次繊毛の異常を伴う新規の骨格障害である可能性があるという証拠を提供する。

9. 2018 年 4 月 27 日(金) 村上康平 抄読

Regulation of ciliary function by fibroblast growth factor signaling identifies

FGFR3-related disorders achondroplasia and thanatophoric dysplasia as ciliopathies.

Kunova Bosakova M, Varecha M, Hampl M, Duran I, Nita A, Buchtova M, Dosedelova H, Machat R, Xie Y, Ni Z, Martin JH, Chen L, Jansen G, Krakow D, Krejci P.

Hum Mol Genet 27:1093-1105, 2018

線維芽細胞増殖因子シグナル伝達による一次繊毛機能の調節は、FGFR3 関連疾患である軟骨無形成症と致死性骨異形成症が一次繊毛の疾患であることを示す

ほとんどすべての細胞において、一次繊毛は細胞外シグナルとシグナル伝達経路をつなぐ機能を持つ。FGFR3 シグナルの恒常的な活性化は、軟骨無形成症 (ACH) および致死性骨異形成症 (TD) を引き起こすが、これらの表現型の基礎となる分子機構の多くは未解決のままである。ここでは、ACH および TD 患者の軟骨成長板では、一次繊毛が顕著に短縮していることを報告する。in vivo および in vitro の実験から、著者らは、FGF シグナルの一過性と持続的な活性化では、一次繊毛に異なる影響を与えることを示している。つまり、一過性 FGF 経路活性化は一次繊毛を伸長させ、持続的な活性化は一次繊毛を短縮させる。FGF は、ERK MAP キナーゼおよび mTORC2 シグナル伝達を介して一次繊毛のシグナルを伝達するが、mTORC1 は介在しない。GFP 標識 IFT20 を使用し、一次繊毛の輸送タンパクの速度を測定したところ、FGF シグナルは IFT 速度を調節するとともに、ヘッジホッグ経路を調節することが明らかになった。これらの結果は、一次繊毛と FGF シグナル伝達とを統合し、生理学および病理学的 FGFR 機

能の機構を解明する際、または FGFR 関連疾患の治療薬の開発において考慮が必要な FGF-一次繊毛経路を示している。

10. 2018 年 5 月 11 日(金) 堀部寛治 抄読

Mutual inhibition between HDAC9 and miR-17 regulates osteogenesis of human periodontal ligament stem cells in inflammatory conditions.

Li L, Liu W, Wang H, Yang Q, Zhang L, Jin F, Jin Y.

Cell Death Dis 9:480, 2018

HDAC9 と miR-17 間の相互阻害は、炎症状態におけるヒト歯根膜幹細胞の骨形成を調節する

ヒストン脱アセチル化酵素 (Histone deacetylases: HDAC) は、ヒストンコアおよび非ヒストンターゲットの翻訳後修飾において重要な役割を果たす。HDAC family の多くは、炎症に関与している。しかし、HDAC family の一つである HDAC9 は、炎症下でどのように調節されるかは不明である。この論文の研究目的は、ヒト歯根膜間葉系細胞 (periodontal ligament stromal cell: PDLSC) における慢性炎症状態 (歯周病) 下での HDAC9 の効果と炎症調節機構を調べることにある。今回の論文では、健常もしくは歯周炎患者のヒト組織由来の PDLSC の比較、PDLSC ペレット移植ヌードマウスおよび LPS 誘発ラット歯周炎実験での HDAC 阻害剤の治療効果について調べている。HDAC9 は PDLSC が炎症状態にあると、最も発現が上昇する HDAC family であり、HDAC9 は PDLSC の骨芽細胞分化能・骨形成能を阻害することがわかった。HDAC 阻害剤または si-HDAC9 による HDAC9 の knock down は、炎症状態での PDLSC の骨芽細胞分化・骨形成能を健常者由来 PDLSC と同様のレベルまでレスキューした。これに関連して、HDAC9 および miR-17 は互いに阻害しあうループを形成することが分かった。miR-17 の阻害は、炎症状態の PDLSC の石灰化物形成を悪化させ、HDAC 阻害剤による骨芽細胞分化・骨形成能のレスキューを阻害した。ヌードマウスへの PDLSC ペレットの移植実験、およびラットの LPS 誘発歯周炎モデルを用いた実験において、HDAC 阻害剤は低下した新生骨形成に対して改善効果を有する可能性があることが確認された。本論文の著者らは、HDAC 阻害剤が in vitro での PDLSC の骨形成能、in vivo での歯周炎の両方に対して改善すると結論付けた。

11. 2018 年 5 月 11 日(金) 小出雅則 抄読

Myc regulates chromatin decompaction and nuclear architecture during B cell activation.

Kieffer-Kwon KR, Nimura K, Rao SSP, Xu J, Jung S, Pekowska A, Dose M, Stevens E, Mathe E, Dong P, Huang SC, Ricci MA, Baranello L, Zheng Y, Tomassoni Ardori F, Resch W, Stavreva D, Nelson S, McAndrew M, Casellas A, Finn E, Gregory C, St Hilaire BG, Johnson SM, Dubois W, Cosma MP, Batchelor E, Levens D, Phair RD, Misteli T, Tessarollo L, Hager G, Lakadamyali M, Liu Z, Floer M, Shroff H, Aiden EL, Casellas R. Mol Cell 67:566-578, 2017

#### Myc は B 細胞の活性化においてクロマチンの脱凝集と核構造を調節する

50 年前、リンパ球の活性化がクロマチンのアセチル化を引き起こすことが発見された。しかし、エピジェネティックな分子メカニズムは未知のままである。著者らは、刺激された B 細胞が 3 つの段階によってクロマチンを脱凝集することを示した。第 1 に、クロマチンはアセチル化されて核周辺から核内全体に広がる。第 2 に、ヒストンナノドメインクラスターは、Myc および持続的なエネルギー供給機構を介して、モノヌクレオソームファイバーに脱凝集される。単一分子イメージングにより、転写因子の非特異的結合の低下が示された。第 3 に、クロマチン相互作用は、長距離から短距離にシフトし、CTCF を介するループドメインは 2 倍に増加した。この構造変化は、同族のプロモーターとエンハンサーの接触を容易にした。以上の結果より、著者らはクロマチンの脱凝集の状態および Myc を介する転写促進機構を明らかにした。これらの結果は、B 細胞の活性化におけるエピジェネティック制御機構を明らかにした、興味深い知見であり、第 17 回松本ボーンファースラム(2018/5/11)で二村先生に御講演いただいた。

12. 2018 年 5 月 18 日(金) 山下照仁 抄読

Aggregatibacter actinomycetemcomitans infection causes DNA double-strand breaks in host cells.

Teshima R, Hanada K, Akada J, Kawano K, Yamaoka Y.

Genes Cells 23:264-273, 2018

#### Aggregatibacter actinomycetemcomitans 感染は、宿主細胞において DNA 二本鎖切断を引き起こす

炎症性疾患である歯周病は、歯周病原体の感染によって引き起こされる。長期の歯周病は、口腔発癌のリスクを増加させる。他の消化器癌と同様に、経口発癌も複数のゲノム

不安定性を必要とする。しかし、ゲノム不安定性の蓄積に関連する危険因子はほとんど理解されていない。本研究は、特定の歯周病原体がゲノムの不安定性のリスクを増加させる可能性があることを示唆した。我々は、宿主細胞において DNA 二本鎖切断 (DSB) を誘導する能力に基づいて、いくつかの歯周病原体をスクリーニングした。

Aggregatibacter actinomycetemcomitans Y4 感染が宿主細胞において DSB 形成を誘導することを見出した。A. actinomycetemcomitans の感染によって誘導された DSB 形成がアポトーシス染色体断片化によって起こったかどうかを評価するために、細胞をカスパーゼ阻害剤、Z-VAD-FMK で処理した。Z-VAD-FMK の存在下でさえも A.

actinomycetemcomitans による感染によって誘導された DSB 蓄積が観察され、この破損がアポトーシスとは独立して起こったことが示唆された。これらの結果は、いくつかの歯周病原体が、宿主細胞におけるゲノム不安定性のリスクを増加させ、続いて発癌のリスクを増加させる可能性があることを示唆した。

13. 2018 年 5 月 18 日(金) 荒井 敦 抄読

HMGB1-induced inflammatory response promotes bone healing in murine tooth extraction socket.

Aoyagi H, Yamashiro K, Hirata-Yoshihara C, Ideguchi H, Yamasaki M, Kawamura M, Yamamoto T, Kochi S, Wake H, Nishibori M, Takashiba S.

J Cell Biochem 119:5481-5490, 2018

**HMGB1 誘発性炎症応答は、マウスの抜歯窩の骨治癒を促進する**

高モビリティグループボックス 1 (HMGB1) は、炎症性刺激に応答して細胞外環境に分泌される非ヒストン DNA 結合タンパク質である。分泌された HMGB1 は、様々な炎症性疾患を媒介することが示唆されている。しかしながら、HMGB1 が抜歯窩の、歯肉上皮を含む組織、および口腔細菌に曝露された歯槽骨における治癒過程に関与しているかどうかは依然として不明である。本研究では、抗 HMGB1 中和抗体投与によるマウス歯抽出モデルを構築し、ミエロペルオキシダーゼ(NPO)活性による好中球の活性分析、組織学的分析、および定量的 RT-PCR により、抜歯窩における炎症反応および骨治癒過程を観察した。歯肉上皮細胞および炎症細胞における HMGB1 の核から細胞質への移行は、抗 HMGB1 抗体投与によって阻害された。抜歯窩周辺の MPO 活性は有意に低下し、抗 HMGB1 抗体投与群では対照群よりも CD31(血管内皮)陽性および CD68(成熟マクロファージ)陽性細胞の数が有意に低かった。TRAP 陽性細胞、オステオカルシン陽

性細胞および新生骨形成は、コントロール群よりも抗 HMGB1 抗体投与群において有意に低かった。IL-1 $\beta$  および VEGF-A の発現レベルもまた、コントロール群と比較して、抗 HMGB1 抗体投与群で減少した。分泌 HMGB1 は、抜歯後の急性炎症および炎症性細胞動員を誘導した。HMGB1 は、破骨細胞および骨芽細胞の活性化による血管新生および骨リモデリングと関連し、抜歯窩における骨治癒を促進した。

14. 2018 年 5 月 25 日(金) 上原俊介 抄読

Identification of a mammalian vesicular polyamine transporter.

Hiasa M, Miyaji T, Haruna Y, Takeuchi T, Harada Y, Moriyama S, Yamamoto A, Omote H, Moriyama Y.

Sci Rep 4:6836, 2014

#### 哺乳類の小胞型ポリアミン輸送体の同定

スペルミン及びスペルミジンは、N-メチル-D-アスパラギン酸受容体のような種々のイオンチャネル型受容体の細胞外部位に結合すると神経伝達調節物質として作用する。受容体にアクセスするために、神経細胞およびアストロサイトで合成されたポリアミンは分泌小胞に貯蔵され、脱分極の際に放出される。小胞への貯蔵は、ATP 依存的でレセルピン感受性の様式を介するが、この過程を担うトランスポーターは未知のままである。SLC18B1 は、小胞型モノアミントランスポーターおよび小胞型アセチルコリントランスポーターを含む、SLC18 トランスポーターファミリーの第 4 のメンバーである。精製されたヒト SLC18B1 タンパク質を含むプロテオリポソームは、H<sup>+</sup>との交換によってスペルミンおよびスペルミジンを能動的に輸送する。SLC18B1 タンパク質は、主に海馬で発現され、アストロサイト中の小胞に局在する。SLC18B1 遺伝子のノックダウンは、アストロサイトにおける SLC18B1 タンパク質およびスペルミン/スペルミジン含量の両方を減少させた。これらの結果は、SLC18B1 が小胞ポリアミントランスポーター (VPAT) をコードすることを示す。

15. 2018 年 5 月 25 日(金) 楊 孟雨 抄読

Hepatic thrombopoietin is required for bone marrow hematopoietic stem cell maintenance.

Decker M, Leslie J, Liu Q, Ding L.

Science 360:106-110, 2018

### 肝臓由来のトロンボポエチンは、骨髄造血幹細胞の維持に必要である

造血幹細胞（HSC）の維持は、外因性のシグナルに依存する。現在のところ、骨髄ニッチから生じる局所シグナルのみが HSC を維持することが示されている。しかし、全身性因子が HSC の持続に関わるかは不明である。我々は、HSC を維持するために必要なサイトカインであるトロンボポエチン（TPO）の生理学的供給源を調べた。TpoDsRed-CreER ノックインマウスを用いて、我々は TPO が肝細胞によって発現されるが、骨髄細胞によっては発現されないことを示した。造血細胞、骨芽細胞、または骨髄間葉間質細胞からの TPO の欠失は、HSC の数または機能に影響しなかった。しかしながら、肝細胞から TPO を欠失させると、骨髄の HSC は枯渇した。したがって、肝臓で肝細胞で作られた循環性 TPO は、骨髄 HSC の維持に必要であることが証明された。以上の結果は、局所的なニッチ因子に加えて循環性因子の全身的 TPO も HSC 維持のための重要因子であることを示している。

16. 2018 年 6 月 1 日(金) 尾崎友輝 抄読

DNA damage checkpoint pathway modulates the regulation of skeletal growth and osteoblastic bone formation by parathyroid hormone-related peptide.

Zhang Y, Chen G, Gu Z, Sun H, Karaplis A, Goltzman D, Miao D.

Int J Biol Sci 14:508-517, 2018

### DNA 損傷チェックポイント経路は、PTH 関連ペプチドによる骨格成長や骨形成を調節する

著者らは、PTHrP 核局在配列（NLS）および C 末端を欠損した副甲状腺ホルモン関連ペプチド（PTHrP）1-84 ノックインマウス（Pthrp KI）が、早期老化や骨芽細胞の形成不良および骨格成長遅延を示すことを以前に示した。しかしながら、骨格の発達を調節する上での PTHrP NLS および C 末端の作用機序は、依然として不明である。この研究では、Pthrp KI の骨格組織における酸化ストレスおよび DNA 損傷応答関連分子の変化を調べた。我々は、ROS レベル、 $\gamma$ -H2AX のタンパク質発現レベル、DNA 損傷マーカー、および DNA 損傷応答マーカーである p-Chk2 および p53 がアップレギュレートされ、また抗酸化酵素の遺伝子発現レベルが有意にダウンレギュレーションされることを見出した。したがって、Pthrp KI（Chk2<sup>-/-</sup> KI）マウスの Chk2 を欠失させることにより DNA 損傷応答経路をさらに破壊して、WT、Chk2<sup>-/-</sup> および Pthrp KI の同腹仔と比較した。Chk2 欠損 Pthrp KI マウスは、成長板の長さ、長骨の長さ、骨梁、骨端骨量、

BMD、骨芽細胞数、I型コラーゲン、ALP 陽性骨領域、骨芽細胞性骨形成、骨格成長が改善した。さらに、抗酸化酵素に関連する遺伝子は有意にアップレギュレートされたが、老化に関連する腫瘍抑制遺伝子は Pthrp KI マウスと比較して Chk2<sup>-/-</sup> KI マウスにおいてダウンレギュレーションされた。著者らの結果は、Pthrp KI マウスにおいて Chk2 を欠失させると、軟骨内骨化および骨形成を増強することによって、骨芽細胞性骨形成および骨格成長を完全にではないが救済することができることを示唆する。したがって、これらの研究は、DNA 損傷チェックポイント経路が骨格発達および成長を調節する PTHrP の標的であり得ることを示した。

17. 2018 年 6 月 1 日(金) 吉田和憲、小林泰浩 抄読

Targeting sphingosine-1-phosphate lyase as an anabolic therapy for bone loss.

Weske S, Vaidya M, Reese A, von Wnuck Lipinski K, Keul P, Bayer JK, Fischer JW, Flögel U, Nelsen J, Epple M, Scatena M, Schwedhelm E, Dörr M, Völzke H, Moritz E, Hannemann A, Rauch BH, Gräler MH, Heusch G, Levkau B.

Nat Med 24:667-678, 2018

#### 骨損失の同化療法としてのスフィンゴシン-1-リン酸リアーゼの標的化

Sphingosine-1-Phosphate(S1P)シグナルは骨代謝に影響する。しかし、骨疾患に対する治療的な潜在能力に関してはよくわかっていない。我々は、S1P を不可逆的に減少させるリアーゼの conditionally deleting や薬物的な阻害により大人マウスの S1P レベルを上昇させたところ、顕著に骨形成、骨量及び骨強度が増え、白色脂肪組織が減少した。S1P2 を介した S1P シグナルは osterix と PPAR- $\gamma$  を逆に調節することで、脂肪細胞形成を抑制し、骨芽細胞形成を促進する。同時に新しく見つかった p38-GSK3b-bcatenin と WNT5A-LRP5 の経路を介して osteoprotegrin を誘導することで破骨細胞形成を抑制している。したがって、S1P2 欠損マウスは骨減少と肥満がみられる。卵巣摘出による骨量減少症において、S1P リアーゼの阻害は間欠的 PTH (iPTH) 治療と同等に骨量を増加させ、骨強度の増加においては iPTH を上回っていた。さらに、マウスにおけるリアーゼの阻害は osteoprotegrin 欠損による全身性の重度の骨粗鬆症を治療できた。

SHIP-Trend population-based study の 4091 例の人のデータの解析により、血清 S1P と骨形成マーカーに有意な相関を認め、骨吸収マーカーとは相関しなかった。さらに、血清 S1P レベルは血清カルシウムと正に相関し、PTH と逆相関し、BMI と相関した。超音波で定量化した骨の強度は骨 S1P と骨形成マーカーである P1NP と逆相関したが、

これは S1P が骨同化活性を刺激して反作用として骨質を悪化させていることを示している。S1P を基にした薬は骨粗鬆症の治療となるだろう。

18. 2018 年 6 月 8 日(金) 村上康平 抄読

The Tumor Necrosis Factor Superfamily Member RANKL Suppresses Effector Cytokine Production in Group 3 Innate Lymphoid Cells.

Bando JK, Gilfillan S, Song C, McDonald KG, Huang SC, Newberry RD, Kobayashi Y, Allan DSJ, Carlyle JR, Cella M, Colonna M.

Immunity 48:1208-1219, 2018

**RANKL は自然リンパ球グループ 3 のエフェクターサイトカイン産生を抑制する**

グループ 3 自然リンパ球 (ILC3) を活性化するシグナルは知られているが、これらの細胞を負に調節する因子は知られていない。著者らは、RANKL が腸の ILC3 活性を抑制することを見出した。ILC3 における RANKL の欠失は、IL-23 および *Citrobacter rodentium* 感染が誘導する CCR6+ ILC3 存在量を増加させ、インターロイキン-17A (IL-17A) および IL-22 の産生を増強した。さらに、RANKL が存在しない CCR6 + ILC3 は、より高い量の ILC3 のマスター転写レギュレーターである ROR $\gamma$ t を産生した。RANKL によるサイトカイン産生の抑制は、T 細胞とは無関係であり、代わりに、RANKL およびその受容体である RANK の両方を発現する CCR6 + ILC3 の間の相互作用を介して生じた。したがって、ILC3 間の RANK-RANKL 相互作用は ILC3 の存在量および活性化を調節し、細胞クラスタリングが ILC3 活性を制御し得ることを示唆している。

19. 2018 年 6 月 15 日(金) 山下照仁 抄読

Folliculin Regulates Osteoclastogenesis Through Metabolic Regulation.

Baba M, Endoh M, Ma W, Toyama H, Hirayama A, Nishikawa K, Takubo K, Hano H, Hasumi H, Umemoto T, Hashimoto M, Irie N, Esumi C, Kataoka M, Nakagata N, Soga T, Yao M, Kamba T, Minami T, Ishii M, Suda T.

J Bone Miner Res doi: 10.1002/jbmr.3477 [Epub ahead of print], 2018

**Folliculin は、酸化的リン酸化とプリン代謝を介して破骨細胞分化を制御する**

破骨細胞の分化はダイナミックな過程であり、代謝状態および遺伝子発現の劇的な変化を伴う。最近の知見により、破骨細胞分化における代謝の再プログラミングと遺伝子発現の変化との間には、本質的な関連性が明らかになっている。しかし、破骨細胞形成に



において、これらの代謝変化を引き起こす上流の調節機構はまだ解明されていない。本研究では、マウス破骨細胞前駆細胞における腫瘍抑制遺伝子 Folliculin (Flcn) の欠損が、過剰な破骨細胞形成を介して、3週間で重度の骨粗鬆症を引き起こすことを示した。Flcn 遺伝子を欠損した破骨細胞前駆細胞は、RANKL に対する感受性の増加を伴い、細胞自律的に破骨細胞形成を促進した。Flcn は、転写因子 Tfe3 の核局在を阻害し、その標的遺伝子 Pgc1 の発現を抑制することにより、酸化的リン酸化およびプリン代謝を調節していた。メタボローム解析により、Flcn 遺伝子欠損の破骨細胞前駆細胞において、酸化的リン酸化およびヌクレオチド産生が顕著に増加していた。その結果、オートクライン・パラクラインに惹起されるプリン作動性受容体刺激と ATP 放出制御から構成される、プリン作動性シグナル伝達ループが増強されていた。このプリン作動性シグナル伝達ループを阻害すると、Flcn 遺伝子を欠損した前駆細胞の破骨細胞形成促進を効率的に遮断できた。以上より、酸化的リン酸化およびプリン代謝の再プログラミングを介する、破骨細胞形成における Flcn-Tfe3-Pgc1 経路の本質的かつ新規な役割を明らかにした。

20. 2018年6月15日(金) 堀部寛治 抄読

Role of Osteocyte-PDL Crosstalk in Tooth Movement via SOST/Sclerostin.

Odagaki N, Ishihara Y, Wang Z, Ei Hsu Hlaing E, Nakamura M, Hoshijima M, Hayano S, Kawanabe N, Kamioka H.

J Dent Res doi: 10.1177/0022034518771331. [Epub ahead of print], 2018

[歯の矯正移動における SOST/Sclerostin を介した骨細胞-歯根膜細胞クロストークの役割](#)

スクレロスチン (Scl) は、骨形成を負に調節し、骨吸収を促進する。骨細胞は、機械的刺激を感受する細胞であるとともに、Scl の主要な供給源であり、さらに RANKL の誘導を介した骨リモデリングの重要な調節因子でもある。しかし、機械的刺激に応答した Scl の経時的・部位的な発現パターンや、その制御機構に関しては未知のままである。今回の論文では、インビボおよびインビトロで矯正力による歯の移動 (OTM) 時における SOST/Scl 発現の調節動態を調べた。8週齢の雄マウスの第1大臼歯にバネを用いた歯の矯正移動を行い、0、1、5、10日後に状態を調べた。局所ヒストグラムおよび Scl 発現の分布パターン解析は、歯槽骨における Scl 発現が圧迫側 (骨吸収側) で徐々に増加し、5日目にピークに達する。10日目に、歯根膜 (PDL) - 歯槽骨境界周辺の

Scl 発現は、対照レベルに戻った。逆に、牽引側（骨添加側）での Scl の発現は、1 日目に有意に減少したのみであった。ヒト PDL 細胞の培養時に機械的応力を与えると、SOST / Scl 発現は弱い応力だと低下、強い応力だと逆に上昇したことから、機械的刺激による歯根膜の Scl 発現は二相的に調節されていることを示した。また、transwell とコラーゲンをを用いた骨細胞-PDL の共存培養に機械的応力を加えて、矯正移動時の環境を培養系で再現した。この実験系で、応力を受けた PDL から放出された液性因子が骨細胞の Scl 発現を上昇させることが判明した。また、応力は PDL の RANKL 発現を上昇させたが、骨細胞の RANKL または OPG 発現には影響しなかった。このことから、矯正時の圧迫側歯槽骨の吸収は歯根膜依存的に起こることが示唆された。さらに、この培養実験系にスクレロチン中和抗体を添加すると、応力によって誘導された SOST の発現レベルは有意に低下した。今回の結果から、機械適応力によって PDL から分泌される SOST / Scl を含む液性因子が存在することが示され、この因子が歯科矯正における骨細胞の SOST / Scl 発現レベルの変化を介して歯槽骨のリモデリングを制御することを示唆された。

21. 2018 年 6 月 29 日(金) 荒井 敦 抄読

Nestin expression is differently regulated between odontoblasts and the subodontoblastic layer in mice.

Nakatomi M, Quispe-Salcedo A, Sakaguchi M, Ida-Yonemochi H, Okano H, Ohshima H. Histochem Cell Biol 149:383–391, 2018

ネスチン発現は、マウスの象牙芽細胞層とサブ象牙芽細胞層とで異なって調節される

ネスチン遺伝子は、VI 型中間フィラメントをコードし、神経新生および筋形成の期間に未分化細胞で発現することが知られている。ネスチン発現を調節するために、第 1 または第 2 のイントロンエンハンサーが存在する。これらのエンハンサーは組織依存的であり、第 1 エンハンサーは間葉系細胞、第 2 エンハンサーは神経幹細胞においてネスチン発現を調節する。ネスチンは、歯の形成期の象牙芽細胞の分化マーカーとしても使用されているが、象牙芽細胞においてネスチン発現がどのように調節されるかは不明な点が多い。本研究は、第 2 イントロンエンハンサーと結合した Nestin-GFP（緑色蛍光タンパク質）を発現する Nestin-EGFP トランスジェニックマウスの形成中（生後 7 日齢、3 週齢、および 8 週齢）の第一大臼歯における GFP と内在性ネスチンの発現パターンを比較した。免疫組織化学的および in situ ハイブリダイゼーション解析では、内在性ネス

チンタンパク質およびネスチン mRNA が分化した象牙芽細胞で発現していた。一方、第 2 イントロンエンハンサーによるネスチン発現を示す GFP の免疫反応は、主に Sub 象牙芽細胞層において観察された。これらの結果は、第 1 イントロンエンハンサーが分化した象牙芽細胞において活性化されることを示唆した。さらに、Sub 象牙芽細胞層における Nestin-GFP の発現は歯の損傷の影響を受けやすい歯冠の歯髓に限定していた。これらのことより、象牙質への外因性刺激に際して、Sub 象牙芽細胞層が新たに分化した象牙芽細胞様細胞の貯蔵庫として機能するため、象牙芽細胞および再生した象牙芽細胞様細胞は異なったネスチン発現制御をうける。

22. 2018 年 6 月 29 日(金) 高橋直之 抄読

TNF $\alpha$  represses BMP signaling by interfering with the DNA binding of Smads through the activation of NF- $\kappa$ B.

Yamazaki M, Fukushima H, Shin M, Katagiri T, Doi T, Takahashi T, Jimi E.

J Biol Chem 284:35987-35995, 2009

TNF $\alpha$  は NF- $\kappa$ B の活性化を介して Smads の DNA 結合を阻害することにより、BMP シグナル伝達を抑制する

骨誘導因子 (BMP) は in vivo および in vitro での間葉系細胞の骨芽細胞への分化を誘導する。TNF $\alpha$  は、骨芽細胞分化および BMP によって誘導される骨形成の両方を阻害する。しかし、この阻害の分子メカニズムは不明である。この研究では、TNF $\alpha$  がアルカリホスファターゼ活性を阻害し、MC3T3-E1 細胞における BMP2 および Smad 誘導性レポーター活性を顕著に低下させることを見出した。TNF $\alpha$  は、Smad1、Smad5 および Smad8 のリン酸化、および Smad1-Smad4 複合体の核移行に影響を及ぼさなかった。p65 欠損マウス由来の胚線維芽細胞において、NF- $\kappa$ B のサブユニット p65 の過剰発現は、BMP2 および Smad 誘導性レポーター活性を阻害した。さらに、この p65 が誘導する阻害は、ドミナントネガティブ I $\kappa$ B $\alpha$  の過剰発現によって回復された。TNF $\alpha$  は Smad1-Smad4 複合体形成に影響を及ぼさなかったが、p65 はその複合体に結合していた。クロマチン免疫沈降および電気泳動移動度シフトアッセイより、TNF $\alpha$  は Smad タンパク質の標的遺伝子への DNA 結合を抑制することが示された。特異的 NF- $\kappa$ B 阻害剤、BAY11-7082 は、これらの現象を廃止した。以上の結果は、TNF $\alpha$  は NF- $\kappa$ B の活性化による Smads の DNA 結合を妨害することにより、BMP シグナル伝達を阻害することを示唆している。

23. 2018年6月29日(金) 高橋直之 抄読

Inhibition of BMP2-induced bone formation by the p65 subunit of NF- $\kappa$ B via an interaction with Smad4.

Hirata-Tsuchiya S, Fukushima H, Katagiri T, Ohte S, Shin M, Nagano K, Aoki K, Morotomi T, Sugiyama G, Nakatomi C, Kokabu S, Doi T, Takeuchi H, Ohya K, Terashita M, Hirata M, Kitamura C, Jimi E.

Mol Endocrinol 28:1460-1470. 2014

NF- $\kappa$ B p65 サブユニットは、Smad4 との相互作用を介して BMP2 誘導性骨形成を阻害する

骨誘導タンパク質 (BMP) は、Smad シグナル伝達経路を介して骨芽細胞分化を誘導する。著者らは以前、NF- $\kappa$ B の活性化は BMP 誘導性の骨芽細胞分化を阻害することを明らかにした。本研究では、NF- $\kappa$ B が Smad 経路を直接標的とすることで、BMP シグナルを阻害することを示す。古典的 NF- $\kappa$ B 経路の選択的阻害剤である BAY11-770682 は、*in vivo* で BMP2 誘導性の異所性骨形成を増強した。NF- $\kappa$ B の主要なサブユニットである p65 が欠損したマウスから調製したマウス胎仔線維芽細胞 (MEF) では、野生型 MEF よりも、BMP2 による骨芽細胞分化がより強く誘導された。p65 欠損 MEF では、BMP2 による Smad1/5/8 のリン酸化レベルは変化しなかったが、より安定な Smad 複合体を誘導した。p65 の過剰発現は、Smad 複合体の DNA 結合能を減少させ BMP2 活性を阻害した。p65 の TA2 ドメインを含む C 末端領域は、BMP-Smad 経路を阻害するために必須であった。p65 の TA2 ドメインは、Smad4 の MH1 ドメインに結合したが、Smad1 とは結合しなかった。p65 は Smad4 と相互作用することで、Smad 複合体の DNA 結合をブロックした。その結果、p65 は BMP シグナル伝達を阻害した。以上より、p65-Smad4 連関を標的とすることにより、骨疾患の治療における骨再生を促進することが可能であることが示された。

24. 2018年6月29日(金) 高橋直之 抄読

A peptide that blocks the interaction of NF- $\kappa$ B p65 subunit with Smad4 enhances BMP2-induced osteogenesis.

Urata M, Kokabu S, Matsubara T, Sugiyama G, Nakatomi C, Takeuchi H, Hirata-Tsuchiya S, Aoki K, Tamura Y, Moriyama Y, Ayukawa Y, Matsuda M, Zhang M, Koyano K, Kitamura C, Jimi E.

J Cell Physiol 233:7356-7366, 2018

#### NF-κBp65 サブユニットと Smad4 の相互作用を遮断するペプチドは、BMP2 誘導骨形成を促進する

骨誘導タンパク質 (BMP) は、in vitro および in vivo で Smad シグナルを介して骨形成を誘導する。転写因子 NF-κB は、BMP が誘導する骨芽細胞の分化を抑制する。著者らは、NF-κB の主なサブユニット p65 の TA2 (trans activation 2) ドメインが Smad4 の MH1 (mad homology 1) ドメインと相互作用し BMP シグナルを阻害することを見出した。本研究では、これらの 2 つの分子の相互作用領域をアミノ酸レベルで同定することを試みた。Smad4 の MH1 ドメインと会合する TA2 の 16 個のアミノ酸よりなる領域を同定した。それを SBD (Smad4 binding domain) と名付けた。細胞膜透過性 SBD ペプチドは、Smad1 / 5 のリン酸化または NF-κB 活性化に影響を及ぼさなかった。しかし、その SBD ペプチドは、p65 と Smad4 の会合を阻害し、BMP2 が誘導する骨芽細胞の分化および石灰化を促進した。BMP2 シグナルでリン酸化された Smad1/5 は Id-1 プロモーターに結合する。SBD ペプチドは、リン酸化 Smad1/5 の Id-1 プロモーターへの結合を増強した。In vivo において、SBD ペプチドは BMP2 が誘導する軟骨形成に影響を及ぼさなかったが、BMP2 が誘導する骨形成を増強した。SBD ペプチドは、BMP2 が誘導する骨再生に有用であると考えられる。

25. 2018 年 7 月 6 日(金) 上原俊介 抄読

Transglutaminase activity regulates differentiation, migration and fusion of osteoclasts via affecting actin dynamics.

Sun H, Kaartinen MT.

J Cell Physiol 233:7497-7513, 2018

#### トランスグルタミナーゼ活性は、アクチンダイナミクスを介して破骨細胞の分化、移動及び融合を調節する

骨吸収細胞である破骨細胞は、単球/マクロファージ細胞系に由来する。破骨細胞活性の増加は、骨粗鬆症、歯周炎および関節リウマチのような疾患における骨破壊の原因である。タンパク質架橋酵素であるトランスグルタミナーゼ (TG) は、最近、破骨細胞

形成に関与することがインビボで見出されたが、TG の作用メカニズムは未知のままである。この研究では、4 つの TG 阻害剤、NC9、Z006、T101、及びモノダンシルカダベリン、を用いて in vitro での破骨細胞形成における TG 活性の役割を調べた。我々の結果は、TG 阻害剤が破骨細胞形成プロセス全体を阻害できることを示す。最も強力な阻害剤、NC9 を異なるフェーズで培養系に添加した場合、成熟破骨細胞の骨吸収活性並びに破骨細胞形成、前駆破骨細胞の分化、移動及び融合を阻害する。メカニズムに対する更なる研究は、NC9 が RhoA レベルを増加させ、ポドソームベルト形成をブロックすることを明らかにした。このことは、TG 活性が破骨細胞前駆細胞におけるアクチン動態を調節することを示唆している。破骨細胞形成及びポドソームベルト形成に対する NC9 の阻害効果は、Rho ファミリー阻害剤 Exoenzyme C3 の添加で完全に回復した。微小管の構造及び  $\alpha$ -チューブリンのアセチル化と脱チロシン化は NC9 添加の影響を受けなかった。最後に、我々は、マクロファージ及び破骨細胞が 3 つの TG : TG1、TG2、及び第 XIII-A 因子の mRNA を発現することを実証した。これらの遺伝子の破骨細胞前駆細胞、マクロファージ及び破骨細胞における発現パターンは全て異なっていた。免疫蛍光顕微鏡分析は、これらの TG がアクチンとともに破骨細胞のポドソームに共局在することを示した。まとめると、我々のデータは、TG 活性がアクチン動態に影響することで破骨細胞の分化、遊走及び融合を調節することを示唆する。これには 3 つの TG 酵素全てが関与するかもしれない。

26. 2018 年 7 月 13 日(金) 尾崎友輝抄読

Senescence Induces Dysfunctions in Endothelial Progenitor Cells and Osteoblasts by Interfering Translational Machinery and Bioenergetic Homeostasis.

Wang GS, Shen YS, Chou WY, Tang CH, Yeh HI, Wang LY, Yen JY, Huang TY, Liu SC, Yang CY, Lin TY, Chen C1, Wang SW.

Int J Mol Sci 19:1997, 2018

老化は、翻訳機構および生物エネルギーの恒常性を阻害することによって、内皮前駆細胞および骨芽細胞における機能不全を誘発する

加齢に関連した骨疾患は、骨の完全性の阻害によって引き起こされ、骨芽細胞の活性および血管新生に密接に関連している。内皮前駆細胞 (EPC) は、血管新生を開始させる働きを有しており、老化誘発性機能不全に関連することが報告されている。この研究の目的は、骨形成および血管新生に対して、EPC の老化による影響を調べることである。

本研究ではヒト初代 EPC およびマウス骨芽細胞株 (MC3T3-E1) を使用した。EPC の老化は、連続継代によって誘導した。老化 EPC と共培養すると、骨芽細胞は弱いアルカリホスファターゼ (ALP) 活性およびミネラル沈着を示す。一方で、骨芽細胞誘発性のミグレーションは細胞内 EPC を減少させた。老化 EPCs の細胞内変化に伴い、Akt / mTOR / p70S6K 経路、MnSOD およびカタラーゼの活性化が減少した。対照的に、活性酸素レベルは、老化 EPC においてかなり高かった。さらに、老化 EPC は、非ミトコンドリア呼吸および解糖系経路が上昇したが、酸化リン酸化レベルを細胞内レベルで低下させた。EPC の老化は、骨芽細胞と EPC の両方の機能を損なうことにより、加齢に伴う骨疾患の病態生理学に EPC が関連することを示唆した。

27. 2018 年 7 月 13 日(金) 吉田和薫 抄読

Fibroblast Heterogeneity and Immunosuppressive Environment in Human Breast Cancer.

Costa A, Kieffer Y, Scholer-Dahirel A, Pelon F, Bourachot B, Cardon M, Sirven P, Magagna I, Fuhrmann L, Bernard C, Bonneau C, Kondratova M, Kuperstein I, Zinovyev A, Givel AM, Parrini MC, Soumelis V, Vincent-Salomon A, Mehta-Grigoriou F. Cancer Cell 33:463-479, 2018

#### ヒト乳癌における線維芽細胞の異種性と免疫抑制性環境

Carcinoma-associated fibroblasts(CAF)は腫瘍微小環境における主要な細胞である。今回我々は乳がんにおいて性質と活性化状態が異なる 4 種類のサブセットを見出した。2 つの筋線維芽細胞様サブセット (CAF-S1 と CAF-S4) がトリプルネガティブ乳がん (TNBC) に異なる集積を示した。CAF-S1 は多段階的な機序で免疫抑制的な環境を促進する。CXCL12 の分泌により、CAF-S1 は CD4+CD25+T 細胞を引き寄せ、OX40L、PD-L2、JAM2 で保持する。さらに、CAF-S1 は B7H3, CD73, DPP4 を通して T 細胞の生存と CD25<sup>high</sup>FOXP3<sup>high</sup> への分化を促進する。最終的に CAF-S4 と比較して CAF-S1 は制御性 T 細胞の容量を増加させ、T effector の増殖を阻害する。これらのデータは FOXP3<sup>+</sup>T 細胞が CAF-S1 が多い TNBC に集積していることと一致しており、CAF サブセットがどのように免疫抑制に関与するのか示すものである。