

日時：9月5日（金）16:50-17:30

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：藤井 慎介（九大 院歯 口腔病理）

一般演題（口演）骨2（01-PM-F5～8）

01-PM-F5 「自然免疫応答制御機構 cGAS-STING pathway の骨形成能における機能の解析」

鈴木 啓¹

（¹ 北大 遺制研 分子生体防御）

センサー分子cGASは細胞質内に侵入したウイルスDNAなどを検知すると、アダプター分子STING(Stimulator of Interferon Genes)を活性化させ、インターフェロンや炎症性サイトカインの産生を介して病原体の排除を行うことが知られている。この機構は自然免疫応答と呼ばれ、ほとんど全ての多細胞生物に存在する生体防御機構である。近年、このSTINGはオルガネラのpHを制御するほか、骨代謝にも影響することが報告されており、STINGの機能とその関連するシグナル経路が想像異常に広い可能性が示唆されている。

我々はSTING、そしてcGASのノックダウンがアルカリフォスファターゼ(Alp) mRNAの転写および細胞外

ALP活性の変化を引き起こすこと、そしてAlp mRNA転写制御に関する β -cateninタンパク質量と、アクチン細胞骨格の変化を引き起こすことを確認した。

ミトコンドリアDNAがcGAS-STING経路を活性化することで炎症性サイトカインを産生させ、骨形成の変化を引き起こすことはすでに報告されているが、cGASとSTINGのノックダウンはそれぞれ相反する結果を示しており、我々の実験結果は既存報告と異なる経路の存在を示している。

本報告は骨代謝や関節リウマチなどの炎症性疾患の解明だけでなく、新たな薬剤開発ターゲットの発見に貢献するものと考えられる。

01-PM-F6 「モデリング期骨組織におけるコラーゲン細線維の集束と骨細胞との関連」

橋本 真奈¹、竹中 佑斗¹、飯村 忠浩²、上岡 寛¹

（¹ 岡大 院医歯薬 矯正、² 北大 院歯 薬理）

【緒言】骨細胞ネットワークを介した細胞間コミュニケーションは骨代謝に際し重要な役割を担っているが、モデリング期骨組織において骨細胞ネットワーク形成に何が関与しているかは不明である。我々は骨細胞ネットワーク形成にコラーゲン細線維の集束が関与していると考え、形態学的に両者の関係の解明を試みた。

【試料および方法】17日齢ニワトリ胚頭蓋骨の1辺25 μ mの立方体領域を直交配置型FIB-SEMを用いて25 nm/voxelの解像度で三次元観察した。次にコラーゲン線維の架橋阻害剤である β -Aminopropionitrile (BAPN)をニワトリ胚に投与し、コラーゲン細線維の集束が阻害された骨組織の骨細胞を解析した。多光子励起顕微鏡によるSecond Harmonic Generation観察法にて対照

群とBAPN群のコラーゲン線維形成を比較後、共焦点レーザー顕微鏡システムにて両群における骨細胞の形態変化を解析した。

【結果および考察】直交配置型FIB-SEMで観察された骨細胞突起は集束したコラーゲン細線維を避けるように伸びていた。対照群の骨細胞は紡錘形で、突起が細胞長軸に対して垂直に伸長し、細胞配向のばらつきが小さいのに対し、BAPN群の骨細胞は円形で、突起は放射状に伸長し、細胞配向のばらつきが大きかった。さらに対照群と比較してBAPN群の骨細胞の面積は小さかった。以上のことから、コラーゲン細線維の集束が骨細胞ネットワーク形成に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

01-PM-F7 「Cxcl12-cre マウスを用いた骨髄 CAR 細胞の系譜解析」

芝原 巧¹、廣瀬 勝俊¹、宇佐美 悠¹、大庭 伸介²、豊澤 悟¹(¹ 阪大 院歯 口腔病理、² 阪大 院歯 口腔解剖 1)

【背景】CXCL12 abundant reticular (CAR) 細胞は、ケモカインCXCL12を高発現する骨髄間質細胞である。CAR細胞は、骨髄の造血幹細胞ニッチを構成するとともに、骨芽細胞・脂肪細胞へ分化する幹細胞の性質を持つとされる。しかし、生体におけるCAR細胞の分化過程の詳細は明らかではない。本研究では、Cxcl12-Creマウスを用いて、骨髄におけるCAR細胞の系譜解析を行った。

【方法】片方アレルのCxcl12遺伝子座にCreを挿入したCxcl12-creマウスを作出し、緑色蛍光を発現するZsGreen (ZsG) マウスと交配させて、CXCL12発現細胞とその子孫細胞をZsGで可視化した。

【結果・考察】マウス大腿骨において、生後1週齢ではZsG⁺細胞は骨髄内の類洞周囲に限局して分布していた。骨内膜上のZsG⁺骨芽細胞数は経時的に増加した(4週齢: 2.0%、12週齢: 23.0%、24週齢: 49.5%)。ZsG⁺細胞はPERILIPIN⁺脂肪細胞と一致したが、TRAP⁺破骨細胞やSOX9⁺軟骨細胞とは一致しなかった。生後24週齢の長管骨骨幹部でのシングルセル遺伝子発現解析の結果、ZsG⁺細胞にはCxcl12⁺/Lepr⁺骨髄間質細胞と、骨芽細胞および脂肪細胞の前駆細胞が含まれていた。以上より、CAR細胞は成獣期における骨芽細胞、脂肪細胞の供給源であることが示された。

01-PM-F8 「低ホスファターゼ症に対する新規胎児遺伝子治療法の確立」

高橋 有希¹、平井 研吾²、石束 叡³、阿部 伸一³、新谷 誠康²、笠原 正貴¹(¹ 東歯大 薬理、² 東歯大 小児歯、³ 東歯大 解剖)

【目的】低ホスファターゼ症(HPP)は、組織非特異的アルカリホスファターゼ(TNAP)遺伝子の変異により、硬組織の石灰化不全や乳歯の早期脱落を主徴とする遺伝性疾患である。現在、酵素補充療法が行われているが、投与開始時期が新生児期以降であることから、対応できない症例がある。また、胎内で症状が進行してしまうために、骨症状に関しては完治に至らないという問題点もある。そこで、筋肉に限定した遺伝子発現の下、胎児遺伝子治療法を検討し、安全性を確立した新規胎児遺伝子治療法の開発を目的とした。

【方法】胎生16～18日齢の母マウスに1～2%でイソフルランによる吸入麻酔を行い、子宮膜上から治療用ベクターを 3.1×10^{10} v.g./g, Total volume: 4 μ L腹腔

内投与した。吸収系にて縫合し、リマダイル0.05mL/10gを皮下投与して正常に出産させた。出産後にジェノタイプングを行い、HPPマウスを胎児治療群とした。

【結果および考察】胎児治療群は、血清ALP活性の有意な上昇、正常な体重増加および延命効果を確認した(P < 0.0001)。また、胎児治療群の大腿骨は骨形成が改善され、ほぼ正常な形態を示した。ALP染色の結果、正常マウスと同部位に陽性部位が確認された。以上の結果から、安全性に考慮した胎児遺伝子治療法は、今まで対応できなかったHPP患者を治療できる可能性を示唆しており、臨床において非常に重要な意義をもつと考える。