

日時：9月7日（日）13:30-14:10

会場：F会場（会議場3階 32会議室）

座長：高見 正道（昭医大 歯 歯科薬理）

一般演題（口演）骨3（03-PM-F1～4）

03-PM-F1 「シングルセル RNA-seq 解析によって同定された、メダカ硬組織における新規 Trap 陽性細胞集団」

茶谷 昌宏^{1,2}、高見 正道^{1,2}

（¹昭医大 歯 歯科薬理、²昭医大 薬理科学研）

【目的】メダカの咽頭歯には破骨細胞が存在し、多数の歯の生え変わりが盛んに行われている。我々は、骨組織分解に関わるTrap（酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ）陽性細胞が、咽頭歯骨のみならず鰭（ひれ）にも存在することを見出した。本研究では、これらのTrap陽性細胞の機能的・分子的特徴を明らかにする。

【方法】Trap陽性細胞は*trap*:EGFPトランスジェニックラインで可視化し、アクチノトリキア（鰭のコラーゲン線維）は抗And1抗体で免疫染色した。*trap*:NTR-EGFPラインとメトロニダゾールを用いた除去実験で機能を検証し、*opg*単独および*opg*;*rankl*二重遺伝子欠損個体で制御機構を解析した。咽頭歯骨と鰭を解離し、シングルセルRNA-seq解析を行った。

【結果・考察】Trap陽性細胞は咽頭歯骨に加え、鰭のアクチノトリキアに沿って局在が確認された。この細胞を除去するとアクチノトリキアが過剰に残存し、分解機能が示唆された。*Op*g欠損でTrap陽性細胞数は増加し、*Rankl*との二重欠損で抑制されたため、*Rankl*/*Op*g経路による分化制御が示された。シングルセルRNA-seqで咽頭歯骨・鰭とも18種類の細胞クラスターが同定され、咽頭歯骨は破骨細胞群、鰭はアクチノトリキア分解細胞群が確認された。前者は*cathepsin K*や*mmp9*など破骨細胞マーカー、後者は*adam*ファミリー遺伝子を高発現しており、新規のコラーゲン分解機構の存在が示唆された。

03-PM-F2 「マウス脛骨の septoclast における ETS1 の局在と酵素発現への寄与」

坂東 康彦¹、崎山 浩司²、長坂 新¹、藤井 みゆき¹、鈴木 海登^{1,3}、天野 修¹

（¹明海大 歯 組織、²明海大 歯 解剖、³明海大 歯 口腔顎顔面外科）

septoclastは長管骨骨端板の骨軟骨境界部(COJ)に存在し、ペリサイトから分化する。*cathepsin B* (CTSB)やMMP-13などの有機質分解酵素を発現し、成獣では骨端板軟骨基質の吸収、発生過程では一次骨化中心の形成に関与する。本研究では、CTSBとMMP-13の発現に関与することが報告されている転写因子ETS1の、マウス脛骨septoclastにおける局在とCTSB、MMP-13発現への関与を、免疫組織化学的染色とRT-PCRによる遺伝子発現定量により調べた。

ETS1は、3週齢(P3w)では、septoclastとCOJ近傍のペリサイトに局在した。発生過程ではseptoclast出現前の胎生14.5日(E14.5)で軟骨原基周囲のペリサイトに局在した。septoclastが発生するE15.0から一

次骨化中心完成後のE16.0にかけてはseptoclastとseptoclastの分布領域にある少数のペリサイトに局在した。以上の結果からETS1はseptoclastへの分化の過程でペリサイトに発現することが示唆された。また、P3wマウス脛骨組織からセルソーターでseptoclastを単離し、control-siRNAとETS1-siRNAを投与後2日間培養しCTSBとMMP-13の発現を比較したところ、ETS1-siRNA投与群で有意な発現の減少が見られた。

本研究によりETS1はペリサイトからseptoclastへの分化におけるCTSBとMMP-13の発現の促進に寄与することが示唆された。

【利益相反】著者は利益相反がないことを宣言する。

03-PM-F3 「Identification and characterization of a novel bone resorption modulator in c-Src/p130Cas axis」

李 傲男¹、Jing Gao¹、自見 英治郎^{1,2}

(¹九大 院歯 口腔細胞工学、²九大 院歯 OBT 研究セ)

Podosome formation is essential for osteoclastic bone resorption, serving as the structural basis for the sealing zone that enables bone resorption. Mice lacking conventional c-src or its adaptor p130Cas specifically in osteoclasts exhibit osteopetrosis caused by impaired osteoclastic bone resorption due to defective podosome formation. We previously showed that c-Src and p130Cas form a complex with Pyk2. To identify novel effectors of this complex, we performed anti-Pyk2 immunoprecipitation followed by mass spectrometry using osteoclasts from WT, c-srcKO, and p130CasΔOCL^{-/-} mice. Through a

series of immunoprecipitation experiments, we narrowed down the candidates to 18 proteins, we focused on molecule X, which plays a critical role in actin cytoskeleton remodeling. Knockdown of X in RAW264.7 or bone marrow-derived cells resulted in reduced actin ring formation, impaired multinucleation, and diminished bone resorptive activity. Immunofluorescence analysis revealed that X colocalizes with p130Cas at the actin ring, and co-immunoprecipitation demonstrated that X is a downstream effector of c-Src/p130Cas signaling, regulating actin ring formation and osteoclastic bone resorption.

03-PM-F4 「リン酸化β-シクロデキストリンによるハイドロキシアパタイト結合を介した骨吸収抑制作用」

吉川 美弘¹、津田 進²、池尾 隆¹

(¹大歯大 生化、²大歯大 化学)

β-シクロデキストリンリン酸 (β-CDP) は、骨組織を標的とし、破骨細胞の機能を制御することを目的に設計された、リン酸官能基を有するβ-シクロデキストリン誘導体である。本研究では、その物理化学的特性、生体適合性、ならびに治療効果について、in vitroおよびin vivoの両面から評価を行った。β-CDPは、ハイドロキシアパタイト (HA) 表面への強固な結合性とコレステロール可溶化能を示し、骨標的化と膜障害誘導という二重の作用機序を有する可能性が示唆された。RAW264.7細胞を用いたin vitro実験において、β-CDPは良好な細胞適合性を示し、RANKLによる破骨細胞分化には影響を及ぼさなかった。一方で、可溶性状態お

よびHA表面に固定化した状態のいずれにおいても、β-CDPは用量依存的に破骨細胞による骨吸収活性を有意に抑制した。さらに、卵巣摘出 (OVX) マウスを用いた骨粗鬆症モデルにおいて、皮下投与されたβ-CDPは全身毒性を示すことなく、海綿骨および皮質骨の構造を効果的に保持した。これらの結果は、β-CDPが破骨細胞の分化を阻害することなく、その機能を選択的に制御できることを示している。高い骨親和性、生体適合性、ならびに合成の容易さを併せ持つβ-CDPは、骨吸収性疾患に対する新たな骨標的治療薬の有望なプラットフォームとなり得る。