

■アップデートシンポジウム 13 (US13)

日時：9月6日(土) 15:00～16:30

会場：E会場(会議場2階 22会議室)

座長：岡村 裕彦(岡大 院医歯薬 口腔形態)

井関 祥子(科学大・院医歯 分子発生・口腔組織)

「硬組織の発生・疾患解明の新境地」

～分子と形態が紡ぐ未来～

15:00～15:18

US13-1 「骨の発生・成長を駆動する骨格幹・前駆細胞の時空間ダイナミクス」

松下 祐樹¹

(1 長大 院医歯薬 硬組織発生再生)

管骨の発生様式である軟骨内骨化では、胎生期骨発生初期の間葉系凝集と、それに引き続く軟骨原基やその周囲を取り囲む軟骨膜が、全ての骨格の起源として骨格系細胞を供給する。しかしながら、これらの骨発生初期の骨格系細胞の動態と骨格形成過程について、時空間的な多様性を考慮しての全貌解明には至っていない。今回われわれは骨発生初期の間葉系凝集、軟骨原基、軟骨膜のサブセットを時空間特異的かつ高解像度で標識し、長管骨の発生・成長過程における細胞の運命を詳細に解明した。

はじめに間葉系凝集形成期の骨格系細胞のシングルセルRNA-seqを行うことで、既知のSox9⁺間葉系凝集の周囲にHes1⁺細胞が局在しており、それらの細胞が発生成長過程で軟骨原基の軟骨細胞に直接分化することを

明らかにした。さらに興味深いことにSox9⁺間葉系凝集のサブセットで凝集の中心に位置するFgfr3⁺細胞は発生成長過程で背側の骨格系細胞に特異的に寄与することが明らかとなった。その後の軟骨原基と軟骨膜においてもサブセットごとにユニークな細胞動態を示した。

以上より、成体の長管骨を構成する骨格系細胞の起源は胎生期の骨発生初期の時点で厳密にプログラムされ、すでに骨発生初期で細胞の運命は決まっており、時空間特異的に骨格形成に寄与することが明らかになった。本研究による知見は、将来的には先天性骨系統疾患の病態解明や治療法開発への貢献が期待できる。

15:18～15:36

US13-2 「骨発生過程のモデリングと遺伝子制御ネットワークの理解」

大庭 伸介¹

(1 阪大 院歯 口腔解剖 1)

1957年にConrad H. Waddingtonが「エピジェネティックランドスケープ」を、1969年にRoy J. BrittenとEric H. Davidsonが「遺伝子制御ネットワーク」を提唱した。この二つの概念は遺伝子発現の連鎖とその制御が発生の根幹であることを示しており、近年の次世代シーケンサーによる解析によって様々な器官発生過程においてほぼ実証されつつある。我々はマウス骨格系細胞を用いた解析から、骨・軟骨発生のマスター転写因子群であるSox9, Sp7, Runx2による遺伝子発現制御機構を報告してきた(Hojo H *et al.* Cell Rep,

2022など)。また、ヒトの骨発生機構を理解するため、ヒト多能性幹細胞を用いた骨発生モデリングも進めてきた。最近、ヒト多能性幹細胞から軟骨内骨化や膜内骨化を再現する手法を開発した(Tani S *et al.* Cell Rep, 2023; Ikeda Y *et al.* Regen Ther, 2023)。特に軟骨内骨化再現系においては、単一細胞レベルで遺伝子発現やエピゲノムを解析することでヒトの骨発生プログラムにおける遺伝子制御ネットワークを予測した。一連の研究のアプローチとデータを紹介し、将来展望についても議論したい。

15:36 ~ 15:54

US13-3 「蛋白質翻訳後修飾酵素の役割からみる新たな骨芽細胞の分化機構」

岡村 裕彦¹、翁 瑤¹

(1 岡大 院医歯薬 口腔形態)

骨芽細胞分化に関するこれまでの研究は、主に転写因子やシグナル伝達経路に焦点を当ててきた。しかし近年、蛋白質翻訳後修飾 (post-translational modification, PTM) 酵素の機能に着目することで、骨芽細胞分化制御の新たな層が明らかになりつつある。我々は、PP2A活性の低下がO-GlcNAc転移酵素 (OGT) の細胞内局在を変化させ、骨芽細胞初期分化過程を促進することを示した (Sari *et al.*, BBRC 2023; J Cell Physiol 2025)。さらに、O-GlcNAc修飾レベルの変動がカルシウムシグナルに影響を与え、Runx2やOsterixなど分化に重要な転写因子の活性を調節することが示された (Weng *et al.*, BioFactors 2021)。加えて、最

新の研究では、O-GlcNAc修飾がミトコンドリアのダイナミクス、細胞骨格構造、小胞体 (ER) とのカップリングに影響を与え、細胞のエネルギー代謝やストレス応答を介して分化に寄与することが明らかとなった (Weng *et al.*, BioFactors 2024)。これらの結果は、単なる転写因子制御にとどまらず、翻訳後修飾と細胞内構造ダイナミクスが統合的に骨芽細胞分化を制御していることを示唆している。本発表では、これらの知見をもとに、PTMを介した新たな骨芽細胞分化機構と、骨粗鬆症をはじめとする骨代謝疾患への応用可能性について議論したい。

15:54 ~ 16:12

US13-4 「成熟骨芽細胞による腫瘍排他的ニッチの誘導」

寺町 順平¹

(1 岡大 院医歯薬 口腔機能解剖)

骨は造血幹細胞や白血病幹細胞のニッチを形成し、造血細胞や腫瘍細胞の維持・生育に骨微小環境が深く関与している。顎顔面にも骨病変を引き起こす多発性骨髄腫では、破骨細胞による骨吸収を促進するとともに、骨芽細胞分化を強力に抑制することで進行に伴い広範な骨破壊を引き起こす。骨病変部では、骨芽細胞分化が抑制された骨髄間質細胞や活性化した破骨細胞が「腫瘍ニッチ」と呼ぶべき細胞環境を構築し、骨破壊と腫瘍進展が互いを促進する悪循環を形成している。

一方、成熟・活性化した骨芽細胞は骨髄腫細胞の生存や増殖を抑制すること、さらに成熟・活性化した骨芽細胞由来の細胞外小胞 (OB-EV) と、その中に内包されるmicro RNAが強力な腫瘍抑制活性を持つことを

最近見出した。詳細な検討により、OB-EVが腫瘍細胞に取り込まれることで、腫瘍細胞のマスター転写因子であるIRF4の発現が抑制され、細胞死が誘導されることが明らかとなった。興味深いことに、OB-EVは正常細胞に対しては細胞障害活性を示さなかった。

このように骨髄腫細胞は、破骨細胞の活性化と骨芽細胞分化の抑制により自らを育む腫瘍ニッチを骨病変部に形成しているが、一方で、骨病変部に骨形成を惹起させることにより骨の回復とともに骨髄腫ニッチを破綻させ、骨髄腫進展を許容しない『腫瘍排他的ニッチ』が誘導できる可能性が示された。今後は、この腫瘍排他的ニッチを誘導する新たな細胞治療法の開発が期待される。

16:12 ~ 16:30

US13-5 「頭蓋冠を形作る細胞の多様性と先天性疾患」

吉本 由紀¹、王 漢洋¹、高 雪莹¹、金 成学¹、原田 敦子²、塗 隆志³、上田 晃一³、
小林 眞司⁴、竹内 純¹、井関 祥子¹(¹ 科学大・院医歯 分子発生・口腔組織、² 社会医療法人愛仁会高槻病院 小児脳
神経外科、³ 大阪医薬大 形成外科、⁴ 神奈川県立こども医療セ 形成外科)

頭蓋冠を構成する前頭骨、頭頂骨、側頭骨、後頭骨は胎生期に膜性骨化により形成され、縫合組織で連結されている。冠状縫合を境として、前方と後方では発生学的起源が異なり、それぞれ神経堤細胞と頭部中胚葉に由来する。頭蓋冠の表面は線維性結合組織である骨膜と硬膜に覆われる。成長期には縫合部位で骨の添加と吸収が起こり頭蓋冠全体の容積が拡大する。我々は、これらの多様な組織と細胞が協調することで、脳の発達と関連した頭蓋冠の成長が達成されることに着目し、それぞれの細胞が持つ特性や発生学的起源による違いを調べている。頭蓋縫合早期癒合症(CS)は、胎児期から乳児期に縫合が早期閉鎖する疾患で、頭蓋冠の発達が妨げられるため様々な神経症状を招き、重篤

な場合は死に至る。我々は頭蓋冠を構築する細胞の調和の乱れと、CS組織病態の関連性に関しても研究している。CSの治療では縫合閉鎖部の外科的骨切りが必須で、その際に得られる組織片から細胞を分離し、異なる患者由来の細胞の特性や遺伝子発現を比較している。これまでに、矢状縫合癒合患者由来細胞が、骨分化誘導時に高い石灰化能を示すことを見出し、それに関連する遺伝子発現変動を解析している。また、縫合閉鎖の過程に関わる細胞動態を理解するため、患者由来iPS細胞を樹立して縫合細胞や骨芽細胞への分化能を解析している。本研究によって、頭蓋冠の細胞の多様性と疾患発症の関連性を明らかにしたい。