

# 骨を造る細胞と骨を溶かす細胞の 生きた相互作用を初めて可視化！

～骨粗鬆症やがんの骨転移に対する新たな治療法開発に光～

キーワード：イメージング、骨芽細胞、破骨細胞、薬理学

## 【研究成果のポイント】

- ◆ 最先端のイメージング技術を駆使して、生きたままで骨の中の細胞を4次元で解析する手法を開発。
- ◆ 生体骨組織内において、骨芽細胞と破骨細胞が相互作用する瞬間を捉えることに成功。
- ◆ 骨粗鬆症やがんの骨転移など、骨の構造が破綻する病気の新たな治療法開発への応用に期待。

## ❖ 概要

大阪大学大学院医学系研究科の石井優 教授(IFReC 免疫細胞生物学兼任)らの研究グループは、組織深部の観察が可能な2光子励起顕微鏡<sup>※1</sup>を用いて、生きたままの骨の内部を観察し、新しい骨を造る“骨芽細胞”と古い骨を溶かす“破骨細胞”を同時に可視化する技術を開発しました。その結果、生体骨組織内において、骨芽細胞と破骨細胞が直接接触しコミュニケーションをとる瞬間を捉えることに世界で初めて成功しました。

固定した骨組織を切り出して顕微鏡で観察する従来の解析手法では、骨芽細胞と破骨細胞の細胞間コミュニケーションの存在や生物学的意義を証明することは困難でしたが、今回、石井教授らの研究グループは、独自の生体イメージング技術を用いて生きたままの骨の表面部分を4次元で詳細に可視化することにより、骨芽細胞と破骨細胞の物理的な接触が破骨細胞の骨を溶かす機能を制御していることが明らかとなりました。これにより、骨粗鬆症やがんの骨転移など骨の構造が破綻する病気に対して、骨芽細胞と破骨細胞のバランスを調節するという新たな治療法開発が期待されます。

## ❖ 研究の背景

骨は、常に新しく生まれ変わるダイナミックな臓器です。古い骨を溶かす“破骨細胞”と新しい骨を造る“骨芽細胞”が互いに協調して働くことによって、骨の構造が緻密に形作られています。これを骨リモデリング<sup>※2</sup>と呼びます。しかしながら、加齢や炎症などにより、骨芽細胞と破骨細胞のバランスが崩れると、骨粗鬆症や関節リウマチなどの骨が壊れる病気になります。これらの病気を治療する上で、骨芽細胞と破骨細胞の関係を正しく理解することが大変重要です。

これまでに骨リモデリングに関わる因子が複数報告されてきましたが、骨芽細胞と破骨細胞がどのようにしてお互いに情報を伝えているのか(細胞同士が直接接触をして情報のやりとりをしているのか、あるいは直接接触をせずに情報のやりとりをしているのか)、骨リモデリングの実体については議論の余地があり

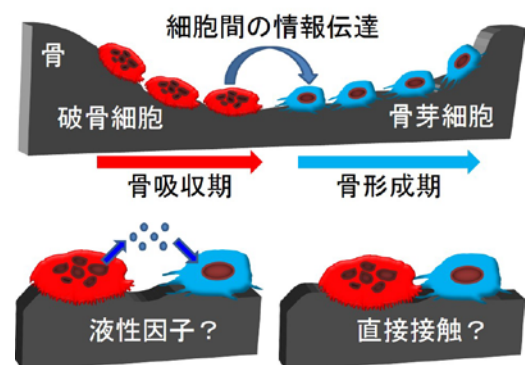


図1. 骨リモデリングの概念図

ました(図 1)。

## ❖ 本研究の成果

石井教授らの研究グループでは、これまで独自に立ち上げてきた骨組織のライブイメージング系を活用して、生きたまま骨の内部の骨芽細胞と破骨細胞を同時に可視化することに成功しました。その結果、骨芽細胞と破骨細胞はそれぞれ数十細胞単位で小集団を形成しており、両者の境界部分のほとんどは細胞同士の接触が観察されませんでした。一部領域において骨芽細胞と破骨細胞が直接接触しコミュニケーションをとることが明らかとなりました。この細胞間コミュニケーションの多くは、破骨細胞の突起が神経シナプス様に骨芽細胞に伸びた構造を呈しており、時間の経過とともに細胞の形態が変化していく様子が観察されました(図 2)。

さらに、骨芽細胞と破骨細胞の細胞間コミュニケーションの生物学的意義を明らかにするために、破骨細胞が出す酸を感知し蛍光が On となる pH 応答性蛍光プローブ<sup>※3</sup> を活用してライブイメージングを行いました。その結果、骨芽細胞と接触している破骨細胞では、骨芽細胞と接触していない破骨細胞と比較して、骨を溶かす機能が低下していることが分かりました(図 3)。これにより、骨芽細胞と破骨細胞の物理的な接触が骨リモデリングの調節に重要な役割を担っていることが明らかとなりました。

最後に、本研究のライブイメージング技術を薬効評価系として応用し、検討を行いました。骨粗鬆症薬として臨床応用されているものの、その作用機序がよく分かっていない副甲状腺ホルモン(PTH)製剤<sup>※4</sup> に注目し、生体骨組織内において PTH 製剤が骨芽細胞および破骨細胞に与える影響を解析しました。その結果、PTH 製剤を連日投与した群では、薬剤を投与してない群と比較して、骨芽細胞と破骨細胞の細胞間相互作用が有意に増加し破骨細胞の骨を溶かす機能が抑制されていることが明らかとなりました(図 4)。これにより、PTH 製剤が生体内で骨量を増加させる仕組みが細胞レベルで明らかとなりました。

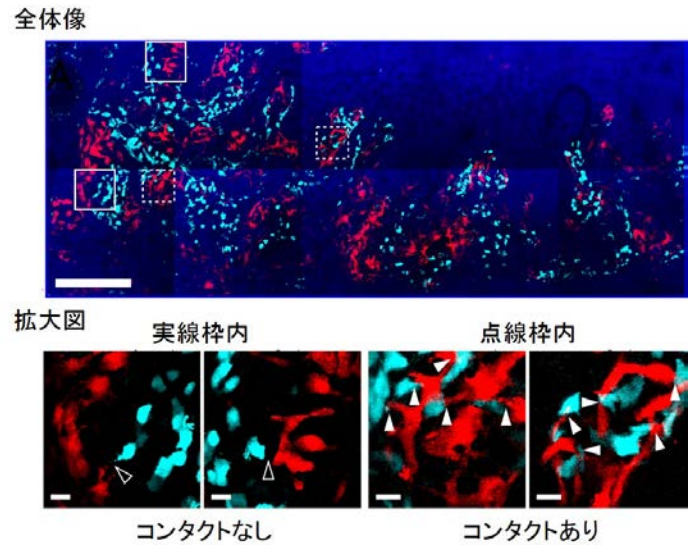


図 2. 生きたままの骨の内部のイメージング画像  
骨芽細胞(水色)と破骨細胞(赤色)が直接接触しコミュニケーションをとる瞬間を捉えることに成功。青色は骨組織。スケールバー: 全体像 300µm、拡大図 20 µm

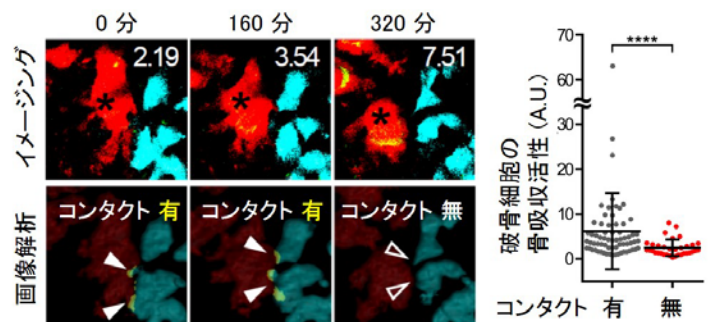


図 3. pH 応答性蛍光プローブを用いた骨吸収活性の解析  
骨芽細胞(水色)と接触している破骨細胞(赤色)は、骨を溶かす機能が抑制されている。緑色は pH 応答性蛍光プローブ。

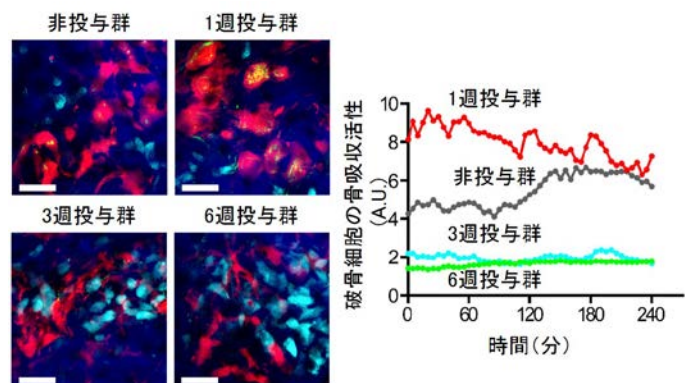


図 4. PTH 製剤の薬効評価  
PTH 製剤は、骨芽細胞(水色)と破骨細胞(赤色)の細胞間相互作用を増加させ、破骨細胞の骨吸収を抑制する。緑色は pH 応答性蛍光プローブ。スケールバー: 50 µm

## ❖ 用語説明

### ※1 2光子励起顕微鏡

蛍光顕微鏡の一種。2光子励起顕微鏡観察では、近赤外光(波長が780~1000 nm)を用いるため、組織の深部まで励起光を到達させることができる。また、2光子励起は焦点面にしか起こらないため、非常にクリアな画像が得られ、観察対象となる臓器・組織への光毒性や蛍光の退色もきわめて小さく抑えることが出来る。そのため、生きたままの臓器・組織の内部の生きた細胞の挙動を観察するのに有用である。

### ※2 骨リモデリング

骨の再構築は破骨細胞分化により開始され、破骨細胞により古い骨が溶かされる。その後、骨芽細胞により新しい骨が造られ、溶かされた部分が完全に覆われる。この一連のサイクルが繰り返されることで骨量が維持されている。この骨の再構築を骨リモデリングとよぶ。

### ※3 pH 応答性蛍光プローブ

破骨細胞が骨を溶かす様子を可視化するために最近開発された。本プローブは生体内で骨の表面に強く接着し、中性条件下では蛍光を発しないが、破骨細胞が骨を溶かすために酸を出し、骨表面を酸性化する(低 pH 環境を形成すると)、この pH の低下にตอบสนองして蛍光が On になる。

### ※4 副甲状腺ホルモン(PTH)製剤

2010年に、ヒト副甲状腺ホルモン 1-34(テリパラチド)が骨粗鬆症治療薬として製造販売承認された。PTH 製剤は、骨形成を促進する薬剤として初めて承認された。強力な骨形成作用により、十分な骨量増加が得られ、優れた骨折予防効果が証明されている。

## 本研究成果が社会に与える影響(本研究成果の意義)

日本全体で1,200万人以上(先進国全体では6,000万人以上)の患者が存在すると言われている骨粗鬆症は、高齢社会の大きな社会問題になっています。現在、様々な骨粗鬆症治療薬が開発されていますが、これまでの薬剤は破骨細胞を標的とした薬剤が主流であったため、治療の際には、破骨細胞の数を減らしすぎて骨のリモデリングができなくなり、逆に骨が脆くなってしまうという問題点がありました。本研究成果により、骨芽細胞と破骨細胞の細胞間コミュニケーションの仕組みが明らかになったことで、“骨芽細胞と破骨細胞のバランスを調節する”という新たな治療法の開発が期待されます。

## ❖ 特記事項

本研究成果は、2018年1月19日(金)(日本時間)に英国科学誌「Nature Communications」(オンライン)に掲載されました。

【タイトル】“Direct cell-cell contact between mature osteoblasts and osteoclasts dynamically controls their functions *in vivo*”

【著者名】

Masayuki Furuya, Junichi Kikuta, Sayumi Fujimori, Shigeto Seno, Hiroki Maeda, Mai Shirazaki, Maki Uenaka, Hiroki Mizuno, Yoriko Iwamoto, Akito Morimoto, Kunihiko Hashimoto, Takeshi Ito, Yukihiro Isogai, Masafumi Kashii, Takashi Kaito, Shinsuke Ohba, Ung-il Chung, Alexander C. Lichtler, Kazuya Kikuchi, Hideo Matsuda, Hideki Yoshikawa and Masaru Ishii\* (\*責任著者)

本研究は、科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業の研究開発領域「統合1細胞解析のための革新的技術基盤」における研究開発課題「動く1細胞の「意思」を読み取る *in vivo* 網羅的動態・発現解析法の開発」(研究開発代表者:石井優)の一環として行われました。