

二光子励起生体イメージングを用いた骨芽細胞・破骨細胞コミュニケーションの解明  
掲載誌 Nature Communications in press

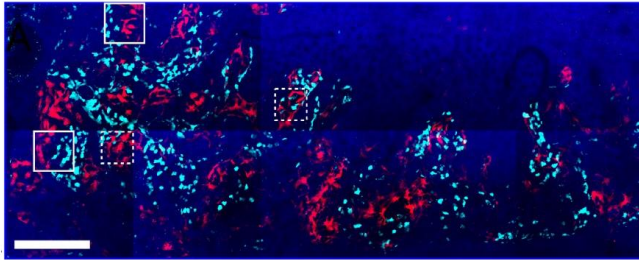
Masayuki Furuya<sup>1,2,3</sup>, Junichi Kikuta<sup>1,2</sup>, Sayumi Fujimori<sup>2</sup>, Shigeto Seno<sup>4</sup>, Hiroki Maeda<sup>5</sup>,  
Mai Shirazaki<sup>1,2</sup>, Maki Uenaka<sup>1,2</sup>, Hiroki Mizuno<sup>1,2</sup>, Yoriko Iwamoto<sup>1,2</sup>, Akito Morimoto<sup>1,2</sup>,  
Kunihiko Hashimoto<sup>1,2,3</sup>, Takeshi Ito<sup>6</sup>, Yukihiro Isogai<sup>7</sup>, Masafumi Kashii<sup>3</sup>, Takashi Kaito<sup>3</sup>,  
Shinsuke Ohba<sup>8</sup>, Ung-il Chung<sup>8</sup>, Alexander C. Lichtler<sup>9</sup>, Kazuya Kikuchi<sup>5</sup>, Hideo Matsuda<sup>4</sup>,  
Hideki Yoshikawa<sup>3</sup> and Masaru Ishii<sup>1,2</sup>

骨は破骨細胞による古い骨の吸収と骨芽細胞による新たな骨の形成が適宜繰り返されることによりその強度やしなやかさが維持されています。この過程は骨リモデリングと呼ばれ、これまでに骨リモデリングに関わる因子は複数報告されてきましたが、その一方で骨芽細胞と破骨細胞が実際どのように互いにシグナルを伝達しあっているのかについてはいまだ殆どわかっていません。そこで本研究では、組織深部の観察が可能な二光子励起顕微鏡を用いて生体骨組織内で骨芽細胞と破骨細胞を同時に可視化する技術を開発し、その技術を用いて両細胞の局在や動態、そして両細胞間のコミュニケーションについて検討しました。

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、小集団の境界部分でもほとんど骨芽細胞と破骨細胞の細胞間接触は観察されませんでした。一部の領域においてのみ両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になりました(図 1)。更にこの両細胞の細胞間接触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 0n となる pH 応答性蛍光プローブを活用してライブイメージングを行い、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、骨溶解能が低下していることを発見しました(図 2)。

加えて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たところ、PTH 製剤を連日投与した群では、薬剤を投与していない群と比較して、骨芽細胞と破骨細胞の細胞間接触が有意に増加し破骨細胞の骨溶解能が抑制されていることがわかり、PTH 製剤が生体内で骨量を増加させる仕組みの一因が細胞レベルで明らかとなりました(図 3)。

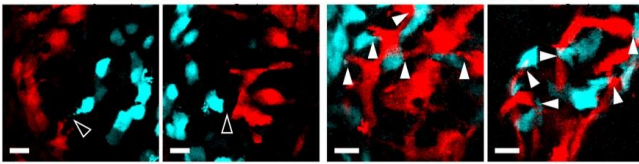
全体像



拡大図

実線枠内

点線枠内



コンタクトなし

コンタクトあり

図 1. 生体骨組織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 300 $\mu$ m、拡大図 20  $\mu$ m

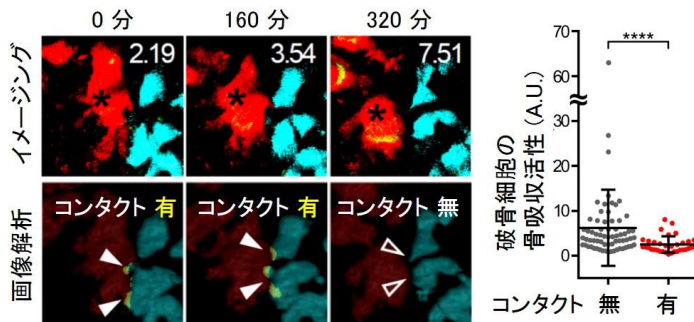


図 2. pH 応答性蛍光プローブを用いた骨吸収活性の解析

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。

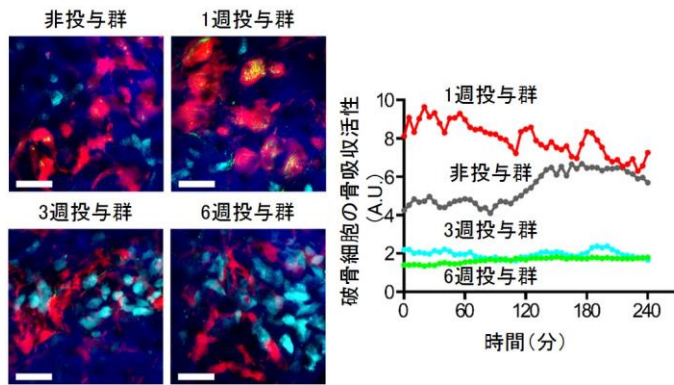


図 3. PTH 製剤の薬効評価

PTH 製剤は、骨芽細胞(水色)と破骨細胞(赤色)の細胞間接触を増加させ、破骨細胞の骨吸収を抑制する。