



骨・運動器領域のトップランナーが一堂に会し、国内外の動向、次の展望についてグローバルレベルに議論！

BONE SUMMIT 今、そして次へ！



オステオネットワーク研究の課題と展望

岡本 一男 Kazuo Okamoto
金沢大学 がん進展制御研究所 免疫環境ダイナミクス研究分野 教授

小守 壽文 Toshihisa Komori
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 分子硬組織生物学（小守班）骨・軟骨基盤創薬研究室 教授

高柳 広 Hiroshi Takayanagi
東京大学大学院医学系研究科 免疫学 教授／日本骨代謝学会理事長

林 幹人 Mikihito Hayashi
東京科学大学大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野 准教授

福本 誠二 Seiji Fukumoto
たまき青空病院 名誉院長



岡本 一男 先生(司会)



高柳 広 先生



福本 誠二 先生



小守 壽文 先生



林 幹人 先生

はじめに

岡本(司会) 本日はお忙しい中、骨サミット座談会「オステオネットワーク研究の課題と展望」にご出席くださいまして誠にありがとうございます。僭越ながら司会を務めさせていただきます。

ご周知のとおり、骨は体を支えて運動を可能にする運動器として機能する以外に、ミネラル代謝調節や造血の場としても重要な組織です。また骨は、外界の環境変化、および体内の生理的変化・病的変化に応じて、内分泌系や免疫系、神経系などの様々な制御システムから調節を受けることが知られています。一方、骨が他システムから制御を受けるという側面とは逆に、2000年後半頃から、骨の

細胞や骨組織由来の因子が他の臓器を遠隔的に制御するという報告がされ始めました。こうした研究動向が契機となり、骨を司令塔とした多臓器制御ネットワークとして「オステオネットワーク」という概念が使われ始め注目を浴びるようになりました。

骨はカルシウムを貯蔵するミネラル代謝の中心的な臓器であり、かつ造血器としても免疫系を制御していると考えれば、骨は全身臓器に影響を与える器官としてみなすこともできると思います。しかし、骨はミネラル代謝や免疫系のみならず、脳神経系や消化器系、生殖器系など、あらゆる生体制御系を遠隔的に操

ることが報告されています。

今年7月に開催された第42回日本骨代謝学会学術集会で会長の高柳広先生が「Osteonetwork: Plus Ultra～オステオネットワーク、その先へ～」というテーマを掲げられたことも記憶に新しいと思います。

そこで本日はオステオネットワークという研究概念に関して、この分野を牽引してこられた先生がたにお集まりいただき、これまでのオステオネットワーク研究と、今抱えている課題、そして今後目指すべき方向性・展望について、議論を交わすことができたらと思っております。よろしくお願いします。

1. 骨と免疫の相互連関について

岡本 骨と多臓器連関という点で、骨免疫学は言うまでもなくオステオネットワーク研究の発展に大きく貢献してきたことだと思います。高柳広先生は、骨代謝と免疫学の融合領域である骨免疫学を確立し、自己免疫疾患や運動器疾患の病態を築く様々な骨と免疫系の相互作用を明らかにされ、骨免疫学を牽引してされました。そこで高柳先生から、骨免疫学の背景、ならびに骨による免疫制御に関してオステオネットワークという観点からお話を聞かせていただきたいと思います。

高柳 オステオネットワークについての座談会を開催していただきありがとうございます。

我々は以前、JST ERATOプロジェクトにてオステオネットワークという言葉を冠した研究グループを作ったこともあります。もともと免疫と骨の関係から研究を始めました。2000年に「骨免疫学」という言葉が使われるようになったこ

とが一つのスタートだったと思います。とはいって、破骨細胞はもともとマクロファージ系の細胞ですし、1980年代から炎症性サイトカインなどが含まれる炎症性細胞の培養上清などを加えると骨吸収が増えるという現象はよく知られてきたことだったので、多臓器連関の中でも特に骨と免疫の関係については早い時期から注目されてきたのではないかと感じています。その中で、特にRANKL(receptor activator of NF- κ B ligand)は、免疫と骨のどちらにも共有されていて双方に重要な役割を担っていることがわかり、より踏み込んだ骨と免疫の関係の研究が進むきっかけになったのではないかと考えています。

RANKLは1997年から98年にかけて見つかり、1999年にJosef M. Penningerらが、T細胞が発現するRANKLが骨の破壊に効いているのではないかということをNatureに発表しました¹⁾。その頃、私たちもT細胞と破骨細胞の関係に

ついて同じような考えを持ちましたが、実験でそういう結果が出なかったのです。Penningerらの論文が出たこともあり、我々はさらに突き詰めていく中で、通常のINF- γ を造るようなT細胞サブセットであれば破骨細胞を増やさないけれども、何かおかしなことが起きていて破骨細胞が増えるようになっているのではないかと考え、骨の細胞と免疫の細胞の分子レベルでの相互作用の解析を進めました(Nature, 2000)²⁾。するとそれをYongwon Choiが「Osteoimmunology」という言葉を使って位置付けたところから(Nature, 2000)³⁾、免疫と骨の新しい時代が始まったと言えるのではないかと思います。

その後、免疫系のノックアウトマウスを骨で見たり、骨のノックアウトマウスを免疫のほうで見たりすることによって、共有されている分子があることが次々と分かってきました。免疫細胞は体中のどの組織にも浸潤していくもののな

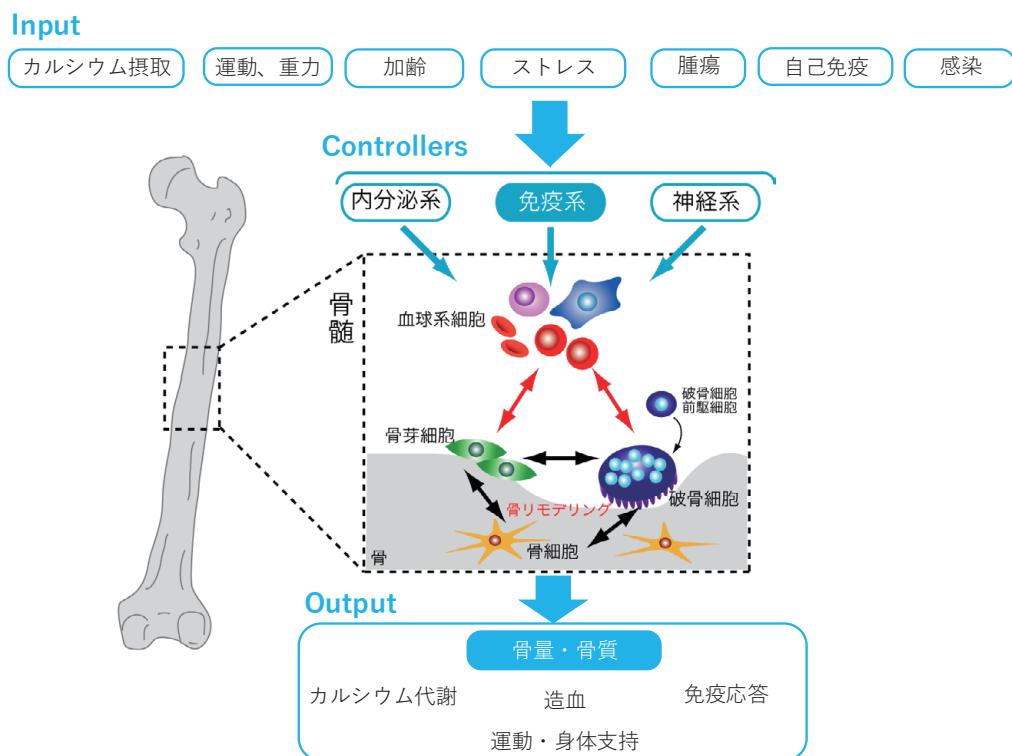


図1. 骨免疫学の概要：骨と免疫系との相互作用による生体制御（岡本先生提供）

で、浸潤した組織に影響を与えるだけだとすると、骨と免疫は特別な関係ではなくて、免疫細胞はどこでも影響を与えるでしょうという批判をいただくこともあります。しかし、免疫にとって骨は、単なるtarget organの1つというわけではなくて、その内で免疫細胞が造られ維持されているという意味で、免疫にとっても根源的な場所であることが特に重要でした。

●骨と免疫の双方向の関係性

高柳 当初は骨芽細胞が造血幹細胞ニッチではないかと提唱された時期もありましたが、今では、osteoprogenitor cellのような細胞集団が造血幹細胞ニッチであるという理解に落ち着いてきたかと思います(*Inflamm Regen.* 2023)⁴⁾。重要な点は、骨髄の間葉系細胞が免疫細胞ニッチとして働くという点です。骨髄の中

に何か変化があれば当然、免疫系や血球系に影響があるという関係にあるので、単に免疫が骨に影響を与えるだけではなく、骨髄の中の環境が免疫系に影響を与えるという双方向の関係性にあります(*Nat Rev Immunol.* 2019)⁵⁾。そうした双方向の骨免疫学により、骨と免疫の関係は非常に特別なものであるということが確立されたと考えています(図1)。ということで、骨による他臓器制御、あるいは他臓器との連関という意味では、骨と免疫の関係性の研究は非常に早くスタートして進歩した領域ではないかと思います。

岡本 ありがとうございます。高柳先生にご説明いただきましたとおり、破骨細胞研究や、免疫系からの骨制御の研究が進む一方で、ほぼ時期を同じくして骨髄造血研究も活発になり、しだいに骨と免疫の双方向の関係性が明らかにされ

てきたという背景があると思います。

さて、オステオネットワークの定義に関する高柳先生のご意見を伺いたいのですが、私は、骨の細胞もしくは骨由来の因子が骨以外の臓器に作用して制御するという現象を総じてオステオネットワークと表現する、と理解しています。いかがでしょうか?

高柳 内分泌器官がホルモンを介して骨に影響を与えるなど、多臓器が骨に作用することがかなりわかってきていた中で、今度は、骨から他臓器への作用も加味した研究という視点が新しかったので、そちらに重点を置いて説明されたかと思います。ただ、骨から他臓器へと言うだけでは一方通行な感じもすると思うので、ネットワークという意味でも、相互作用という点までを含めて考えるほうがいいのかなと思います。

2. FGF23 発見からプロスマブ承認へ至る道のり

岡本 続いて、骨が産生する他臓器制御因子の代表格とも言えるFGF23(線維芽細胞増殖因子23)について、第一人者である福本先生に解説していただきたいと思います。福本先生はFGF23がクローニングされてからこれまで長年にわたりFGF23を中心としたリン代謝調節機構の研究を展開されてきました。そこでFGF23の発見から、プロスマブ

(ヒト型抗FGF23モノクローナル抗体)誕生に至るお話を聞かせいただきたいと思います。

●2000～2001年、相次ぐ同定の報告

福本 ありがとうございます。

FGF23の発見ということでは、2000年に欧米のコンソーシアムが低リン血症を特徴とする常染色体顕性低リン血症

症性くる病・骨軟化症(ADHR)の原因遺伝子として、ポジショナルクローニングによって同定しました(*Nat Genet.* 2000)⁶⁾。ほぼ同時に、京都大学の伊藤先生たちのグループがマウスでFGF15に対するホモロジーからFGF23をクローニングしたという論文(*Biochem Biophys Res Commun.* 2000)⁷⁾が発表されています。

FGF23関連低リン血症性疾患	責任遺伝子
X連鎖性顕性低リン血症性くる病: XLH, XLHR	PHEX
常染色体顕性低リン血症性くる病: ADHR	FGF23
常染色体潜性低リン血症性くる病1: ARHR1	DMP1
常染色体潜性低リン血症性くる病2: ARHR2	ENPP1
骨空洞性骨異形成症	FGFR1
ジャンセン型骨幹端軟骨異形成症	PTHR1
歯の異常、異所性石灰化を伴う低リン血症	FAM20C
神経線維腫症1型	NF1
McCune-Albright症候群/線維性骨異形成症	GNAS1
皮膚、骨病変を伴う低リン血症	HRAS, KRAS, NRAS
腫瘍性骨軟化症: TIO	
ポリマルトース鉄、含糖酸化鉄、カルボキシマルトース鉄	
胆道閉鎖症	
アルコール	

表1. FGF23 関連低リン血症性疾患とその責任遺伝子 (福本先生提供)

PHEX: phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X chromosome.

DMP1: dentin matrix protein 1.

ENPP1: ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1.

FAM 20C: family with sequence similarity 20, member C.

我々がFGF23の研究に関与するようになったのは、ADHRと同じように低リン血症を特徴とする腫瘍性骨軟化症の惹起因子としてFGF23をクローニングしたためです。腫瘍性骨軟化症は腫瘍随伴症候群の一つであり、原因の多くは中胚葉性の腫瘍です。その腫瘍から何らかの液性因子が出て低リン血症になるとと言われてきましたが、腫瘍性骨軟化症の患者さんの原因腫瘍の中で高発現するクローナンを選別するという方法によってFGF23を同定しました。これが論文になったのは2001年でした(*Proc Natl Acad Sci USA.* 2001)⁸⁾。

FGF23はもともと疾患の病因因子として同定されていましたが、その後FGF23ノックアウトマウスなどの検討により、FGF23は生理的にもリン、あるいはビタミンD代謝を調節する因子であることがわかつてきました。

現状では、どこからFGF23が過剰产生されるかは別の話として、FGF23の作用が過剰になると10種類以上の低リン血症性疾患が惹起されることがわかつています(表1)。これらの疾患は、すべて同じ病態を示します。日本では「FGF23関連低リン血症性くる病・骨軟化症」という保険病名になっています。

●FGF23のリン濃度調節と疾患との関係

福本 ご存じのように、血中カルシウム濃度を規定する最も重要なホルモンは副甲状腺ホルモン(以下PTH)です。PTHは血中カルシウム濃度を上げるホルモンですから、PTHの作用が過剰な場合には原発性副甲状腺機能亢進症などに示されるように、高カルシウム血症になります。逆にPTHの作用が障害されると低カルシウム血症となります。さらに、血中PTH濃度は血中カルシウム濃度によって調節されているので、PTH以外の原因で高カルシウム血症になると血中PTHはネガティブフィードバックで低値になります。逆に、PTHの作用不足以外の原因で低カルシウム血症になるとネガティブフィードバックが解除され、血中PTHは高値になります。PTHが生理的なカルシウム調節ホルモンとして作用するため、カルシウムとPTHを測定すればカルシウム代謝異常症の病因がおおよそ解るようになっています。

FGF23が同定された後、FGF23の測定、あるいはFGF23ノックアウトマウスの解析などによって、FGF23の作用が過剰になるとFGF23関連低リン血症性くる病・骨軟化症になることがわかつてきました。この場合は、FGF23の過剰作用によってリンが低くなり、血中

FGF23が高くなります。逆に、FGF23分泌不全によりFGF23の作用が障害される高リン血症性腫瘍状石灰沈着症では、高リン血症と活性を有するFGF23の低値が認められます。また逆に、FGF23の過剰作用以外の原因で低リン血症になると、リンによって血中FGF23濃度も調節されていますので、FGF23もリンも低くなります。さらに、FGF23作用障害以外の原因で血中リン濃度が高くなると、リンが高くなつてFGF23産生が促進され、FGF23も高くなります。

このようにリンとFGF23の測定により、リン代謝異常症の大まかな病因鑑別ができることがわかつてきました。血中カルシウム濃度調節におけるPTHと同様に、リン濃度調節においてFGF23は必須の役割を果たしているホルモンであることがわかつてきましたと考えています。

●FGF23関連低リン血症性疾患の治療薬開発の経緯～抗FGF23抗体プロスマブ承認へ～

福本 クローニングされた当初、FGF23はどこで產生されているかわかりませんでしたが、現状では、生理的には骨芽細胞(late Osteoblast)、あるいは骨細胞(osteocyte)によって產生されると考えられています。そこで作られたFGF23

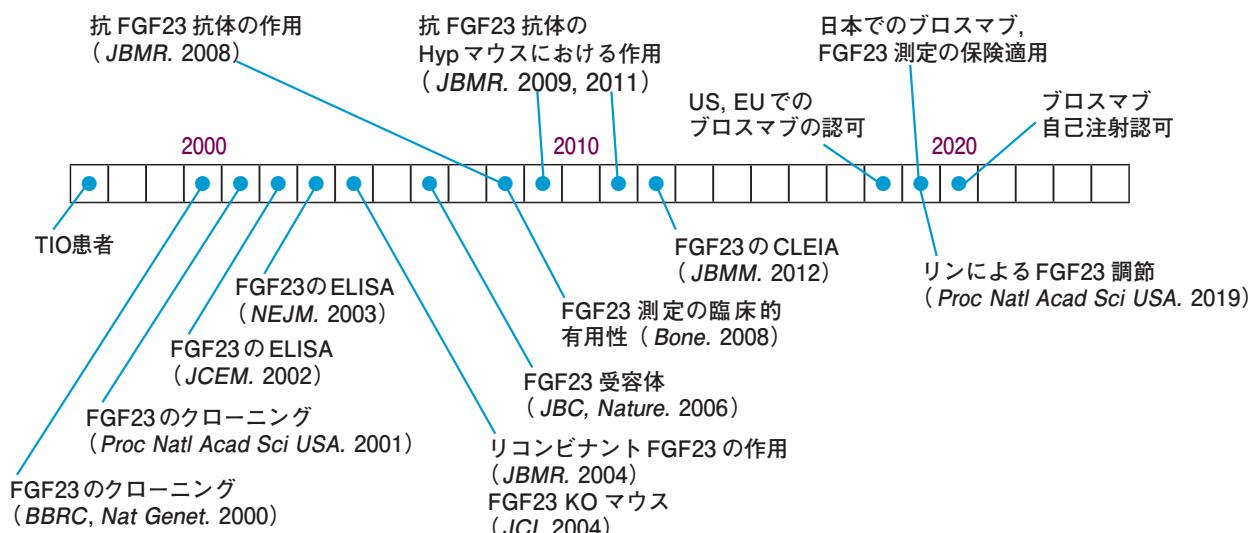


図2. FGF23の同定からプロスマブの認可まで(福本先生提供)

はKlothoとFGF受容体の複合体に結合することにより細胞内にシグナルを伝達します。このためFGF23の作用を阻害することがFGF23関連低リン血症性くる病・骨軟化症の新たな治療法になる可能性が考えられ、FGF23の作用を阻害する方法が幾つか報告されました。例えば、FGF23は分泌される前、あるいは分泌された後に、N端及びC端のフラグメントに切断されます。このC端フラグメントを大量に投与すると、全長FGF23が受容体に結合するのを競合的に阻害し、全長FGF23の作用を阻害すると報告されました。また、骨におけるFGF23の産生、あるいはFGF23の作用にはFGF受容体が必要であることがわかつてきしたことから、FGF受容体の阻害薬がFGF23関連低リン血症性疾患の治療薬になるのではないかの報告もありました。さらに、受容体の下流のMAPキナーゼの阻害薬もFGF23関連低リン血症性疾患の治療薬の候補と考えられました。ただしFGF受容体もMAPキナーゼもほぼ全ての臓器にありますので、FGF受容性の阻害薬もMAPキナーゼの阻害薬も組織特異的な作用を発揮さ

せるのは難しいだろうと考えられます。そこで我々は、FGF23に対する抗体でFGF23作用を阻害することを検討しました。

FGF23の同定からプロスマブ認可までの主な進展を図に示しました(図2)。最初にFGF23のクローニングが報告されたのが2000年、我々が腫瘍性骨軟化症の惹起因子としてFGF23をクローニングした報告をしたのは2001年でした。ちなみに、我々が腫瘍性骨軟化症の患者さんを拝見したのは1997年でした。

我々が抗FGF23抗体の効果を初めて報告したのは2008年で、この時は野生型マウスを用いた検討でした。その後2009年と2011年には、FGF23関連低リン血症性疾患の一つのモデルマウスであるHypマウスにおいて、FGF23の作用を阻害することで低リン血症が改善することを示しました。

薬(プロスマブ)として認可されたのは、USとEUで2018年、日本では翌2019年でした。欧米ではプロスマブは、X染色体顕性低リン血症くる病(以下XLH)と腫瘍性骨軟化症に対し認可されていますが、日本ではFGF23関連低リ

ン血症性くる病・骨軟化症の全ての疾患に対して保険適用になっています。現状では、プロスマブは世界50カ国近くで認可されています。2020年にはプロスマブの自己注射が日本で認可されています。以上です。

岡本 ありがとうございます。わかりやすい年表を示していただき大変勉強になりました。ちなみに、プロスマブは今後、海外で適用拡大されるような予定はあるのでしょうか。

福本 米国ではXLHあるいは腫瘍性骨軟化症の患者さんで治験を実施して申請、認可されていますが、この2疾患と比べて他の疾患は患者数が非常に少ないので、基本的に治験が困難です。おそらく今後さらに広めるというところでは力を入れていないかもしれません。日本では、他の疾患も同じ病態だからとPMDA(医薬品医療機器総合機構)と交渉して適用になりました。

岡本 ありがとうございます。なおプロスマブの研究開発は、2024年度日本薬学会創薬科学賞を受賞されました。福本先生もその受賞者のお一人でいらっしゃいます。

3. オステオカルシンによる他臓器制御の研究情勢について

岡本 続きまして、骨が他臓器を制御する現象として、FGF23に統いて注目を浴びるようになったオステオカルシン(Osteocalcin)に目を向けてみたいと思います。オステオカルシンが注目され始めたきっかけは、Gerard Karsenty博士の研究だったことは言うまでもないと思います。これまでKarsenty博士はオステオカルシンが示す他臓器制御機能に関して数々の報告をされてきました。一方、小守壽文先生は、独自にオステオカルシン欠損マウスを作製し、その表現型に関して論文(*PLoS Genet.* 2020)⁹⁾を発表されました。特に、Karsentyらによる報告とは異なる表現型が観察されたという内容であり、骨代謝分野において非常に注目されたご研究がありました。そこで、小

守先生にオステオカルシンに関するお話をいただきたいと思いますが、その前に、私からKarsentyらの過去の報告について概要を説明させていただきます。

●Gerard Karsenty博士らが報告したオステオカルシンによる他臓器制御

岡本 2007年に*Cell*に発表されたKarsentyらの報告が、最初にオステオカルシンが注目されるきっかけとなった論

- i. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007. ^{10.i)}
- ii. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010. ^{10.ii)}
- iii. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*. 2011. ^{10.iii)}
- iv. Osteocalcin Signaling in Myofibers Is Necessary and Sufficient for Optimum Adaptation to Exercise. *Cell Metab*. 2016. ^{10.iv)}
- v. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell*. 2013. ^{10.v)}
- vi. Embryonic osteocalcin signaling determines lifelong adrenal steroidogenesis and homeostasis in the mouse. *J Clin Invest*. 2022. ^{10.vi)}

表2. Gerard Karsenty博士らによるオステオカルシンに関する主要な報告¹⁰⁾(岡本先生提供)

文(表2.i)ではないでしょうか。オステオカルシンはGla化を受けると、 γ -カルボキシグルタミン酸残基が γ カルボキシ化され、ヒドロキシアパタイトと結合して骨組織に蓄積しますが、非Gla化オステオカルシンがホルモンとして働き、臍臓や脂肪に作用して糖代謝を調節するという報告でした。

また、インスリンが骨芽細胞に作用してOPG低下によって骨吸収を亢進させることで酸性環境を作り出し、オステオカルシンの非Gla化を誘導するといった正のフィードバックループが働くことも報告されています(Cell. 2010)(表2.ii)。

続いて、Karsentyらは、オステオカルシンが精巣に作用してテストステロンの産生を促進する(Cell. 2011)(表2. iii)ことや、筋肉に作用してグルコースや脂肪酸の取り込みを促進するといったことも報告しています(Cell Metab. 2016)(表2. iv)。

さらにオステオカルシンが脳に作用するという論文も発表されました(Cell. 2013)(表2.v)。オステオカルシンは血管脳門を通過して脳の神経細胞に作用し、セロトニンやドーパミンといったモノアミン系の神経伝達物質の合成を促すとともに、GABAの合成を阻害して不安や抑うつを予防し、学習と記憶を促進する。さらには、母由来のオステオカルシンが胎児の脳に作用し脳発達にも関与するという、非常に興味深い内容であります。

2022年には、胎児期にオステオカルシンが副腎に作用して副腎の成長やステロイド産生細胞の形成を制御し、出生後の副腎皮質ホルモン産生にも影響を与えるという内容の論文も出しています(J Clin Invest. 2022)(表2. vi)。

以上、Karsentyらの主な論文を挙げさせていただきました。それでは、小守先生に、オステオカルシンによる全身制御に関するご研究についてお話しを伺いたいと思います。よろしくお願ひします。

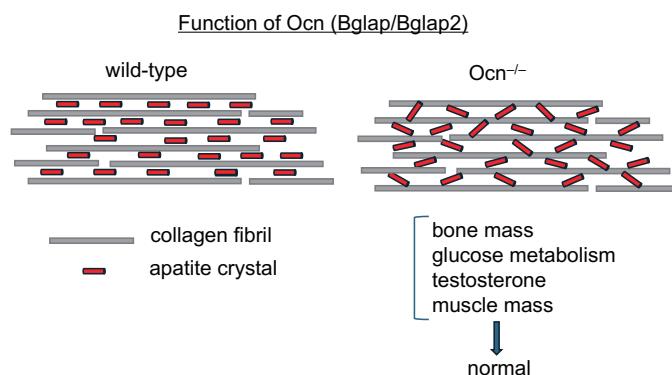


図3. 骨におけるオステオカルシン(OCN)の機能

我々が解析した範囲では、オステオカルシンはコラーゲン原線維と平行なBAp結晶の配列を調整することで骨の質と強度を最適化するために作用しているが、骨量、グルコース代謝、テストステロン合成、筋肉量の制御には関与していない。(小守先生提供)

●小守先生によるオステオカルシン欠損マウスの解析結果

小守 僕は、Karsentyらとは別に独自にオステオカルシン欠損マウスを作製し、骨と糖代謝と精巣のテストステロン産生、そして筋肉に対する影響を調べてみました。

まず骨について述べますと、皆さんご存知だと思いますが、Karsentyらは1996年Natureに、オステオカルシンは骨形成を抑制すると報告しています。要するに、オステオカルシンをノックアウト(以下KO)すると骨が増えるという結果を示していますが、我々のオステオカルシン欠損マウスの解析では同様の表現型を観察できませんでした。なお向こうのコラボレーションでやった後に出了た骨質を見る論文(Ann NY Acad Sci. 2017)¹¹⁾でも再現できないという報告がなされています。糖代謝に関しても異常は認められませんでした。米国のBart O. WilliamsのグループもPLoS Genet(2020)の同じ号に出していますが、糖代謝は正常であるという結果を報告しています。また僕の研究では精子形成も正常、精巣の大きさも正常であり、テストステロンの産生にも異常を認めませんでした。筋肉の量も、筋肉を切った面積も正常であり、Karsentyらがこれまで報告したオステオカルシン欠損マウスの表現型を観察するにいたしました。一方、脳や自律神経までは解析できていません。

僕らが解析した範囲では、骨での機能はアパタイト結晶をコラーゲン線維に平行に配列させる機能を持っていたということだけがポジティブなデータです(図3)。

このように、僕らのオステオカルシンKOマウスでは、骨量の維持にも関係ありませんし、糖代謝、テストステロン産生、筋肉量を制御する機能も見られませんでした。僕らとWilliamsのグループがPLoS Genetに発表した際、KarsentyとManolagasはそれぞれコメントを出しています。その中で、Karsentyは「動物で何も起こらなくても、それを大量投与したときに何らかの活性が出れば、それはホルモンである」と主張しています。一方、僕らはオステオカルシンをマウスに大量投与するような実験は行っておらず、この点に関して評価はできません。

●Karsenty報告との違いについて

小守 どうしてこれだけ表現型が違ってしまうのか。先日の骨代謝学会(第42回日本骨代謝学会学術集会)でもお話しましたが、ひとつは、マウスの遺伝的バックグラウンドの違いに寄ることが挙げられます。

糖代謝の場合、例えば129バッカグラウンドとB6バッカグラウンドでは全く違う挙動を示します。負荷試験のときの糖の値や、インスリンの値も全く違うような挙動を示します。Karsentyらの各報

告では129とB6のミックスバックグラウンドマウスを使っているため、遺伝的背景と各表現型との関連性を正確に判断することは難しいのですが、ピュアバックグラウンドでやっても、血糖値もインスリンもかなりばらつくので、遺伝子的背景を統一した上で検証することが必要だと考えられます。

僕が論文を出したときには、既報とは異なり、ネガティブなデータであるため

受理されるまでなかなか困難でした。しかしながら、こうした研究の積み重ねは重要であり、Scienceの「骨と多臓器連関」という概念を築き上げる上では必要なプロセスであると思っています。

岡本 ありがとうございます。私も当時、小守先生の論文と一連のコメントを興味深く拝読させていただきました。

遺伝子欠損マウスに関しては、ターゲティングベクターによって作製された時

代とは違い、現在はゲノム編集技術によりKOマウス作製のハードルが下がりました。さらにバッククロスをする時間も短縮でき、世界中の誰もが比較的すぐに遺伝子欠損マウスの表現型を確認できる時代が訪れていると思います。今後さらなる検証が積み重なることで、オステオカルシンによる他臓器制御の実態が明らかになることを期待します。

4. セマフォリンの役割、及び骨と神経の関係性に関する研究情勢

岡本 続いて、骨と神経系との関係性に関する話題に移りたいと思います。神経軸索ガイダンス因子であるセマフォリン(Semaphorin)が、骨の制御にも関与することがわかり、骨と神経系を繋ぐ因子という観点でセマフォリン研究は重要な位置を占めるようになりました。林先生は、セマフォリン3A(以下Sema3A)が骨吸収と骨形成の双方を制御する骨保護因子であることを発見され、これまで精力的に骨代謝におけるセマフォリンの役割に関して研究を続けられています。そこで林先生に、セマフォリンを含め骨と神経系との関係性に関してご説明いただきたいと思います。お願いします。

●破骨細胞分化抑制活性をもつ因子

林 我々がセマフォリンに着目したのは、骨芽細胞由来のオステオプロテゲリン(以下OPG)以外の破骨細胞分化抑制因子を探そうという試みで、OPG欠損骨芽細胞培養上清を分画して破骨細胞分化抑制活性を示したフラクションを同定したことが契機でした。このフラクションに含まれるタンパク質を質量分析によって解析したところ、その中の1つはSema3Aというタンパク質でした(Nature. 2012)¹²⁾。

セマフォリンは元来、神経軸索の発生段階において軸索の伸長をはねのける因子(chemorepulsive factor)として、EphrinやSlitなどとともに知られていた分子です。その中でもSema3Aは可溶型

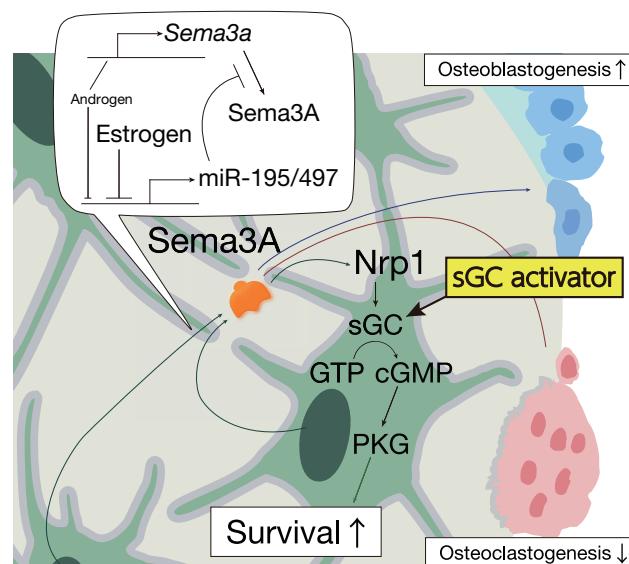


図4. 骨由来 Sema3A の骨での機能

骨芽細胞系列での Sema3A 発現はエストロゲンによって活性化され、骨細胞生存、骨芽細胞分化促進、破骨細胞分化抑制を介して骨の恒常性に重要な役割を担う。(林先生提供)

のタンパク質で、受容体はNeuropilin-1とPlexin-AのComplexが主に関わっていることが知られていました。Sema3Aは通常、神経が走行して欲しくない領域に発現することで神経を正しい方向に導いているわけですが、Sema3A欠損マウスでは末梢神経の走行経路が無秩序となってしまい、投射部位の異常を示すことが知られていました。

骨芽細胞系列で発現する Sema3Aは骨に作用し、神経には作用しないことが我々のデータでも、後ほど紹介する竹田秀先生のデータでもわかっています。骨で発生する Sema3Aはエストロゲンによって発現が制御され、骨細胞の生存や、

破骨細胞分化抑制、骨芽細胞分化促進など多機能性を示して骨の恒常性に重要な役割を担っています(図4)。

また、Sema3Aの下流で活性化する因子として、可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)、cGMP-dependent protein kinase (PKG) のpathwayを同定し、sGC活性化剤がこのpathwayをターゲットとした治療標的になるのではないかということを報告しています(Cell Metab. 2019)¹³⁾。

●セマフォリンが関与する骨と神経の関連性

林 次に、セマフォリンが関与する骨

と神経の関連性についてお話をしたいと思います。

2013年、竹田秀先生らが神経特異的Sema3A欠損マウスの骨組織を解析し、神経で発現するSema3Aは骨の細胞には作用せず、神経の細胞に作用して骨への感覚神経の投射を制御することで正常な骨量調節に関わると報告されました（*Nature*. 2013)¹⁴⁾。

なぜ神経由來のSema3Aが骨の細胞に作用しないのかということについては不明でしたが、最近いくつかの報告がありました。例えば、脛骨神経を切断したマウスでは骨量が減るわけですが、その一因として神経細胞で発現するSema3Aの低下が関与しているのではないかとの報告（*J Cell Mol Med.* 2024）¹⁵⁾があります

し、また、矯正学的歯の移動で矯正力をかけると、感覚神経でSema3Aが上昇し、そのSema3Aが骨形成に関与しているのではないかとの報告もあります（*Int J Oral Sci.* 2024）¹⁶⁾。すなわち、少なくとも発生段階では神経由來のSema3Aは神経のみ作用する可能性がありますが、成獣になってからは神経由來のSema3Aは神経にも骨芽細胞系列細胞にも作用する可能性があると考えられます。

●骨と神経連関に関わる他の因子

林 ちなみに、神経由來の因子として知られているNGF（神經成長因子）も骨との関連性が報告されています。NGFは神経にも間葉系細胞にも作用しますが、2023年にMorrisonらは、骨髓間

葉系細胞の一つであるLepR陽性細胞がNGFを産生し、成体の骨髓における神経の維持や、放射線照射後などの骨髓造血再生の神経による制御に関わっていると報告しています（*Nat Cell Biol.* 2023）¹⁷⁾。

岡本 ありがとうございます。

骨細胞・骨芽細胞系統が神経を制御する報告として、私からも一例紹介しますと、Kousteniらは骨芽細胞由来のリポカリンが脳神経細胞に作用し、視床下部に働くて食欲抑制経路を活性化させることを示しました（*Nature*. 2017）¹⁸⁾。リポカリン2は骨以外の組織でも発見しますが、彼らはコンディショナルKOマウスを用いて骨芽細胞由来であることを証明しています。

5. 骨と代謝の関係性、骨髓環境と免疫の関係性に関する研究情勢

岡本 これまでご紹介頂いた事例以外にも、骨芽細胞や骨細胞、破骨細胞が遠隔的に他臓器を制御するという報告は多数ございます。林先生から、近年の話題に関して少しご紹介いただくことはできますでしょうか。

●骨と脂肪代謝の関連

林 それでは、骨と神経・脳の関連以外で挙げてみたいと思います。最も研究が進んでいるのは骨による代謝・脂肪の制御です。その点で非常に重要な研究成果は片山義雄先生らの2013年の報告でした（*Cell Metab.* 2013）¹⁹⁾。2007年の池田恭治先生らの報告により、Dmp1-DTRに対するジフテリア毒素投与による骨細胞除去マウスで骨量が低下することがわかつっていました（*Cell Metab.* 2007）²⁰⁾。片山先生らは同様のマウスの全身のフェノタイプを調べたところ、胸腺や脾臓の退縮が見られた他、B細胞分化の異常や、精巣上体脂肪の著明な減少を見出されました。また、普通の状態では肝臓に異常ありませんが、VMHアブレーションを行うと激烈な脂肪肝を呈することも示されました。

その後もさまざまな臓器に作用する骨由來の分子に関する報告が続々となされています（図5）。代謝との関係では、まず2015年の報告で、Osteocalcin-CreによるLrp5のコンディショナルKOマウスではエネルギー消費が低下することによって脂肪量が上昇していることが示されました（*Mol Cell Biol.* 2015）²¹⁾。ごく最近でも、Dmp1-CreによりTGF-β受容体を欠損させたマウスで、むしろエネルギー消費が上昇して高炭水化物食や高

脂肪食の条件下で体重が上昇しないことが示されています（*JCI Insight*. 2024）²²⁾。

骨と代謝に関連する最も有力な因子がスクレロスチン（Sclerostin）です。2017年、スクレロスチン欠損マウスやスクレロスチン抗体を投与したマウスでは脂肪量が有意に低下することや、インスリン感受性が上昇することで高脂肪下の体重上昇が抑えられることが示されています（*Proc Natl Acad Sci USA*. 2017）²³⁾。

また、セマフォリンと同じchemo-

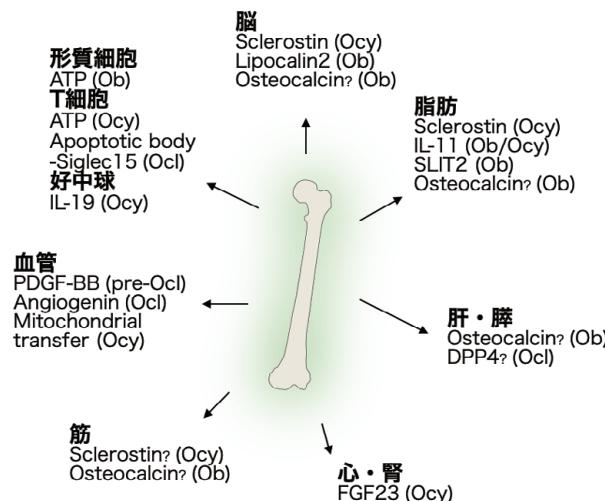


図5. 他臓器に影響する骨由來因子

骨が産生する因子は全身の様々な臓器・細胞に作用することが報告されている。
Ob: 骨芽細胞, Ocy: 骨細胞, Ocl: 破骨細胞
(林先生提供)

repulsive factorとして知られていたSLIT2が骨芽細胞系列細胞で発現し、Osterix-CreによるSLIT2のコンディショナルKOマウスは白色脂肪組織重量が増え、白色脂肪の褐色化が低下することによって体重上昇が誘導されるのではないかということが報告されました(Nat Commun. 2024)²⁴⁾。

松本俊夫先生らのグループから、Osteocalcin-CreによってIL-11を欠損させると、体重は変わらないものの脂肪量が上昇して耐糖能異常やインスリン抵抗性がみられるとの報告がありました。メカニズムとしては、脂肪におけるDkk1/2の発現が上昇することによるものである可能性が示されました。これは若齢での報告です(Nat Commun. 2022)²⁵⁾。一方、加齢条件ではIL-11欠損マウスやIL-11抗体でブロックしたマウスは体重や脂肪量が低下し、フレイルも抑制されるのでIL-11シグナルのブロックはむしろ健康寿命を延伸するのではないかとの報告があり(Nature. 2024)²⁶⁾、骨とそれ以外での発現やライフステージにおける機能の違いなどに注意を要します。

●骨による血管系制御、免疫制御に関する最近の話題

林 また、前破骨細胞が分泌するPDGF-BB(血小板由来増殖因子BB)は血管内皮細胞に作用してH型血管を制御することや(Nat Med. 2014)²⁷⁾、動脈硬化や血管石灰化に関わっているとの報告もありました(J Clin Invest. 2021)²⁸⁾。

他にも、破骨細胞はAngiogeninを产生して、その受容体Plexin-B2によって血管の老化をプロテクトしているのではないかという報告(Nat Commun. 2021)²⁹⁾や、骨細胞がミトコンドリアを直接血管内皮細胞にトランスファーすることで、

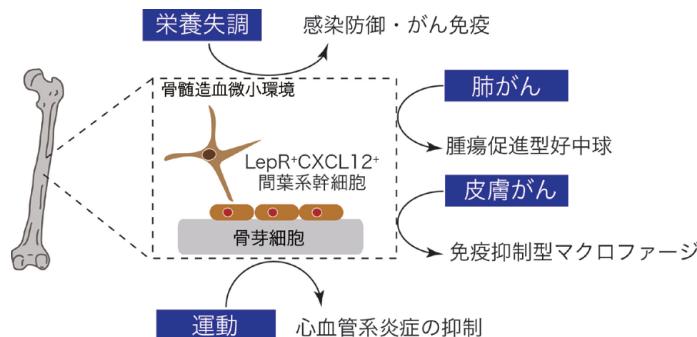


図6. 様々な刺激が骨髄環境を刺激することで免疫系が変化し、その結果、骨以外の組織を病変部とする疾患に影響を及ぼす(岡本先生提供)

transcortical vesselの形成・維持に関わっているのではないかという報告もあります(Nat Commun. 2024)³⁰⁾。

骨と免疫の関係に関する最近の報告ですが、例えば、骨芽細胞由来のATPは形質細胞に作用してその生存を維持し(Nature. 2024)³¹⁾、骨細胞由来のATPはT細胞に作用する(Cell Rep. 2024)³²⁾、ということが示されております。また骨細胞由来のIL-19は好中球の形成に関わっているという報告(Blood. 2021)³³⁾や、アポトーシスを起こした破骨細胞由来のapoptotic bodyはCD8 T細胞の活性化を抑制するという報告もあります(Cell Rep Med. 2023)³⁴⁾。

このように、ごく最近に限ってもオステオネットワークの関連として非常にたくさんのお研究が行われており、注目がますます高まっている領域という実感を得ています。

岡本 ありがとうございます。大変きれいにまとめてくださり、とてもわかりやすかったです。

●骨髄環境が変化することで、他臓器の病態に影響が及ぶ

岡本 外的・内因的なストレスが骨髄環境を刺激することで免疫系が変化し、その結果、骨以外の他臓器で起こる病態に様々な影響を及ぼすという報告も近年

数多く発表されています(図6)。

たとえば肺癌由来のsRAGEと呼ばれる可溶型の終末糖化産物受容体が骨芽細胞に遠隔的に作用すると、protumorigenicな好中球が生成され、それらが肺癌に移行して癌の進展に関わることが報告されています(Science. 2017)³⁵⁾。また、皮膚癌でも骨芽細胞・骨細胞に作用して免疫抑制型マクロファージが誘導され、さらに癌の病変部位に移行することで抗腫瘍免疫応答を抑えるといったことも報告されています(J Exp Med. 2016)³⁶⁾。

また、運動では、骨髄のLep受容体陽性間葉系幹細胞におけるCXCL12の発現が促され、造血幹細胞が静止期に止まり、その結果炎症性白血球が減少することで、心血管系の炎症が抑えられるという報告もあります(Nat Med. 2019)³⁷⁾。

さらに、栄養失調時にメモリーT細胞を骨髄で維持させることにより、細菌感染防御や癌免疫にも有効であるとの報告(Cell. 2019)³⁸⁾や、断食により骨髄のCXCL13産生が亢進しナイーブB細胞の骨髄への遊走が誘導されることも報告されています(Cell. 2019)³⁹⁾。

ここに挙げた論文の多くは、in vitro 解析や、骨組織及び骨構成細胞の遺伝子発現解析に基づいて、骨芽細胞、骨細胞、間葉系幹細胞の関与を示しています。

6. 今後オステオネットワーク研究を進める上で課題と展望

岡本 最後に、オステオネットワーク研究の課題と展望をテーマに、自由に

ご意見をいただき議論できればと思います。最初に話題提供の意味も含め、私が

思う課題を2点挙げさせていただきたいと思います。

●細胞特異的Creマウスに関する懸念

岡本 1つ目はKOマウスに関する問題です。FGF23やオステオカルシンなどのように、発現が骨特異的であることが明確な分子であれば全身性のKOマウスを用いて解析して何ら問題ないと思いますが、他の臓器や組織でも発現するような因子が骨由来であることを証明するためにはコンディショナルKOマウスを作製し実証する必要があると思います。その際に使用するCreマウスの特異性が注意すべき点ではないかと思っています。骨芽細胞特異的、骨細胞特異的なCreマウスとしては、Col1(2.3kb)-Cre、Osterix-Cre、BGLAP-Cre、Dmp1-Creなどがありますが、Col1(2.3kb)-Creは脳で発現が漏れるといった論文もありますし、Dmp1-Creも他の細胞で発現が漏れているという報告もあるかと思います。Osterix-CreやBGLAP-Creでは発現漏れはいかがでしょうか。林先生は何かご存じですか。

林 Osterixはオリゴデンドロサイトにも発現していることが報告されています（*Neuron*. 2024)⁴⁰⁾、つい最近、頭蓋の骨髄の好中球でオステオカルシン陽性細胞があることが示されました（*Cell Rep.* 2024)⁴¹⁾。もしかしたらこれらの細胞を含めた他の細胞でも発現しているかもしれません。

岡本 骨細胞特異的Creという点では現在、Sost-Creが一番適切だと考えられますか。

林 骨細胞特異的としてはそう思います。スクレロスチンも、切片を見ると陽性の骨細胞と陰性の骨細胞があり、全ての骨細胞がラベルできるかどうか不明です。スクレロスチンは一部の骨髄細胞でCreが陽性であることがわかっていますが、骨髄のそれを無視すれば、骨細胞特異性は高いと思います。

岡本 今後特異性の高いCreが作製されれば、より信憑性の高いデータが得られるようになるのではないかと期待します。

●分泌タンパク質の産生細胞をin vivoレベルで特定する手法

岡本 2つ目は、ある因子Xが骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞由来であると実証する方法の確立です。ある組織で検出された分泌因子が、どの臓器・組織由来であるかを探査し証明する手法の一例として、去年報告された論文を紹介します（*Cell Metab.* 2023)⁴²⁾。この論文では半径約10nm以内に存在するタンパク質に対して無差別にビオチンを付加するTurboIDというビオチンリガーゼを使った解析法が使われています。TurboIDをコードしているアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターをマウスに感染させるのですが、TurboIDはloxP配列で挟まれているため、Creが発現することではじめてTurboIDの発現が誘導されます。そこで様々な種類のCreマウスにTurboIDを搭載したAAVを感染させることで、特定のCre発現細胞種だけで網羅的にタンパク質にビオチンが付加されるという系です。この論文では複数種のCreマウスを用いて、運動によってどの細胞由来の分泌因子の産生が増加しているか／低下しているかを検討しており、PDGFR α -Cre発現細胞、すなわち線維芽細胞由来と考えられる分泌因子の発現が、運動によって最も変化すると結論付けられています。

ある因子Xが骨細胞や骨芽細胞由来であることを実証する方法は他にもあると思います。林先生が注目されている方法はありますか。

●in vivoタンパク質ラベリングマウス

林 時空間的・細胞特異的なin vivoタンパク質ラベリングマウスがあります。これは2017年に報告された、Cre依存的に変異型メチオニンtRNA合成酵素を発現するマウスを用います（*Nat Biotechnol.* 2017)⁴³⁾。その変異酵素が発現する細胞において、低メチオニン状況下で6-アジドノルロイシン（Anl）という人工アミノ酸を投与すると、メチオニン残基をAnl残基に置き換えることが可

能です。Anlにはアジド基がありますが、このAnlを含むタンパク質は生体反応や機能を攪乱しないとされています。すなわち、Cre特異的に変異型メチオニルtRNA合成酵素を発現させて低メチオニン食にしてAnlを投与すると、Cre発現細胞でのみAnlを取り込ませることができます。

骨特異的なCreマウスを用いてこの実験を行えば、Anlが含まれるタンパク質は骨から全身の様々な臓器に運ばれるので、全身の臓器からタンパク質を取り出されると、骨由来のAnl含有タンパク質が含まれているはずです。銅イオン存在下において、Anlのアジド基はアルキンとトリアゾール環を穏やかな反応で形成させることができ、骨以外の臓器での骨由来のタンパク質に対してビオチンや蛍光色素等で標識を行うことが可能です。ビオチンで標識をすればストレプトアビジンで精製でき、それを質量分析にかけられれば、骨由来タンパク質を他臓器で同定できますし、蛍光標識をすれば他臓器での局在解析も可能です。この方法を用いると、特異性の高いCreマウスがいればAAVなどの感染を用いずに誰でも実験を行うことが可能になっています（*Nat Protocol.* 2019)⁴⁴⁾。

これらの技術においても特異性の高いCreの開発が必要ではありますが、いずれも網羅的スクリーニングに活用できますので、オステオネットワークに関わる分泌因子の解析に貢献しうる技術ではないかと思いました。

●骨特異的な他臓器制御因子の存在理由とは

岡本 高柳先生、オステオネットワーク研究に関する課題などご意見がございましたらお願いします。

高柳 FGF23は、まさに骨が造って他臓器に効いていて、しかもその作用は非常に強力なので、オステオネットワークの制御因子として好例であると思いますが、今後新たな発見の可能性はどれだけあるのだろうか、という心配も少しあ

ります。

我々は、RANKL研究のように、どちらかと言えばオステオネットワークの観点でやっていたけれども、結局、産生される場所が重要であるという結論になってしまっています（*Nat Metab.* 2019）⁴⁵⁾。内分泌系のように産生臓器がありそこでの制御が非常に重要で、カスケードができているということではないとすると、何故わざわざ骨で造って他のところに効かなければならぬのか、必然性はどうなのかなという思いもあります。骨で造られて内分泌を制御するようなホルモンが単独で見つかる可能性は減ってきているかもしれないけれども、先ほど紹介されたように、ある臓器の影響によって骨髄の中が変わり、それによってまたどこか他臓器に影響を与えるというように、特殊な条件下で相互作用の結果起きている現象というところであればまだ期待が持てるかもしれないという思いはあります。

岡本 ありがとうございます。続きまして福本先生、課題や展望についてご意見いただけますでしょうか。

福本 サイトカインにしても何にしても、骨でも骨以外でも産生される因子の場合、骨特異的にその因子の産生を阻害して効果が出たとしても、何故その因子が骨で造られなければならないのかという問題が解決されないですね。また、先ほど紹介されたTurboID、6-Anlにしても、骨で造られたものが他臓器に行くとしても他の組織から出た同じ分子が行く可能性もあるので、どれが効いているか証明することは結構難しいように思うのです。FGF23は生理的には骨で発現しますが、ただし発現量は必ずしも多くはないです。ですから、オステオネットワークの概念からすれば、骨特異的なものを探したほうが早いような気がします。

何故FGF23は骨で造られなければならないのか、私は前から考えていますが、よくわかつておりません。進化上たまたまそうなっただけで考えても理由などな

いのかもしれません、系統発生的に見ていると、FGF23は軟骨魚類にはほとんどなく、硬骨魚類にはあるので、骨の進化と関係しているような気はしています。ただ、骨特異的に造られなければいけない理由がある分子は、それが分泌タンパク質であればオステオネットワークとしての重要な因子である可能性が高いのではないかという気はします。

岡本 ありがとうございます。

●真に特異的なCreマウスが求められている

岡本 次に林先生、よろしくお願いします。

林 骨で産生されたものが他臓器に行って機能することを証明するためには、骨で特異的に欠損させる必要がありますが、Creの特異性という観点では、先ほどご指摘があったように、CreがCollalでもOsterixでもDmp1でもSclerostinでも骨以外のところで発現してしまう可能性があるので、その点を留意する必要があると思います。

他の研究でよく使われていますが、1つのプロモーターに依存したCreの発現機構ではなく、例えばCre-loxP以外にもDre-roxやVika-voxなど、別のリコンビナーゼと異なるプロモーターを組み合わせて特異性を高めることで、本当に骨特異的なマウスを作製することが求められています。また、Split-Creを使って2つのプロモーターが同時に発現している細胞だけリコンビネーションが起きるようなマウスを作製することも考えられます。

岡本 ありがとうございます。

●発信者にも受け取る側にも求められる評価能力

岡本 最後に小守先生、オステオネットワーク研究の課題や展望についてご意見お聞かせいただけますでしょうか。

小守 結局、骨由来のものが他臓器に作用するときには、最終的に*in vivo*で証明する必要があるわけですが、それはかなり精確に*in vivo*の実験を行い評価

をすることが前提です。そして、その報告を受け取る側はそれを的確に評価できなければなりません。

例えば、ある細胞種特異的プロモーターでジフテリア・トキシンを出して特定の細胞をアブレーションするという方法は、非常に乱暴な方法でもあると言えます。例えば、細胞を一気に殺せば、アポトーシス、ネクローシスを起こし、大量のサイトカインが放出され、骨吸収も、形成も免疫系も造血系も影響を受けるという可能性も考慮しておく必要があります。

また、*in vivo*でマウスを作製するとき、いろいろな方法でtissue specificにしなければならないことはもちろんですが、そこから出た表現型をきちんと評価できることが非常に重要だと思います。いくら丁寧に表現型を追求してもあまり評価されないので、すぐにメカニズムの話になって表現型の評価が非常に甘いケースもあるように思います。

研究者はきちんと評価ができるように努める必要があるのはもちろんですが、受け取る側も、きちんと自身で評価ができる能力を持つことが重要だと思います。こうした姿勢が今後のオステオネットワーク研究の進展のために求められていることだと思います。

岡本 ありがとうございます。この分野だけに限りませんが、研究を実施する側も、それを見る側もあくまでも実験科学主義に基づいて評価していくことは非常に重要であると思います。

本日は、貴重なお話・ご意見をうかがうことでき私も大変勉強になりました。オステオネットワークがテーマという点でも非常に貴重な座談会になったと思いますし、多くの先生がたにも興味を持って読んでいただけたのではないかと期待しています。

改めましてこの度はご参加ください誠にありがとうございました。これにて終了させていただきます。

参考文献

1. Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle W, Penninger JM. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature*. 1999;402:304-9.
2. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, Takaoka A, Yokochi T, Oda H, Tanaka K, Nakamura K, Taniguchi T. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature*. 2000;408:600-5.
3. Arron JR, Choi Y. Bone versus immune system. *Nature*. 2000;408:535-6.
4. Omatsu Y. Cellular Niches for Hematopoietic Stem Cells and Lympho-Hematopoiesis in Bone Marrow under normal and malignant conditions. *Inflamm Regen*. 2023;43:15.
5. Tsukasaki M, Takayanagi H. Osteoimmunology: evolving concepts in bone-immune interactions in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2019;19:626-642.
6. ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*. 2000;3:345-8.
7. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 277:494-8.
8. Shimada T, Mizutani S, Muto T, Yoneya T, Hino R, Takeda S, Takeuchi Y, Fujita T, Fukumoto S, Yamashita T. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:6500-5.
9. Moriishi T, Ozasa R, Ishimoto T, Nakano T, Hasegawa T, Miyazaki T, Liu W, Fukuyama R, Wang Y, Komori H, Qin X, Amizuka N, Komori T. Osteocalcin is necessary for the alignment of apatite crystallites, but not glucose metabolism, testosterone synthesis, or muscle mass. *PLoS Genet*. 2020;16(5):e1008586.
10. i. Lee NK, Sowa H, Hinai E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy PD, Karsenty G. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007;130:456-469.
ii. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Fattore AD, DePinho RA, Teti AT, Ducy P, Karsenty G. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010;142:296-308.
iii. Oury F, Sumara G, Sumara O, Ferron M, Chang H, Smith CE, Hermo L, Suarez S, Roth BL, Ducy P, Karsenty G. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*. 2011;144:796-809.
iv. Mera P, Laue K, Ferron M, Confavreux C, Wei J, Galán-Díez M, Lacampagne A, Mitchell S, Mattison JA, Chen Y, Justine Bacchetta J, Szulc P, Kitsis PN, de Cabo R, Friedman RA, Christopher Torsitano C, McGraw TE, Michelle Puchowicz M, Kurland I, Karsenty G. Osteocalcin Signaling in Myofibers Is Necessary and Sufficient for Optimum Adaptation to Exercise. *Cell Metab*. 2016;23:1078-1092.
- v. Oury F, Khrimian L, Christine A Denny CA, Gardin A, Chamouni A, Goeden N, Huang Y-Y, Lee H, Srivivas P, Gao X-B, Suyama S, Langer T, Mann JJ, Horvath TL, Bonnin A, Karsenty G. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell*. 2013;155:228-241.
vi. Yadav VK, Berger JM, Singh P, Nagarajan P, Karsenty G. Embryonic osteocalcin signaling determines lifelong adrenal steroidogenesis and homeostasis in the mouse. *J Clin Invest*. 2022;132:e153752.
11. Bailey S, Karsenty G, Gundberg C, Vashishth D. Osteocalcin and osteopontin influence bone morphology and mechanical properties. *Ann NY Acad Sci*. 2017;1409:79-84.
12. Hayashi M, Nakashima T, Taniguchi M, Kodama T, Kumanogoh A, Takayanagi H. Osteoprotection by semaphorin 3A. *Nature*. 2012;485:69-74.
13. Hayashi M, Nakashima T, Yoshimura N, Okamoto K, Tanaka S, Takayanagi H. Autoregulation of osteocyte Sema3A orchestrates estrogen action and counteracts bone aging. *Cell Metab*. 2019;29:627-637.
14. Fukuda T, Takeda S, Xu R, Ochi H, Sunamura S, Sato T, Shibata S, Yoshida Y, Gu Z, Kimura A, Ma C, Xu C, Bando W, Fujita K, Shinomiya K, Hirai T, Asou Y, Enomoto M, Okano H, Okawa A, Itoh H. Sema3A regulates bone-mass accrual through sensory innervations. *Nature*. 2013;497:490-493.
15. Shi J, Zhang B, Wu Z, Zhang Y, Gupta A, Wang X, Wang J, Pan L, Xiao M, Zhang S, Wang L. Peripheral nerve-derived Sema3A promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through the Wnt/ β -catenin/Nrp1 positive feedback loop. *J Cell Mol Med*. 2024;28:e18201.
16. Mei H, Li Z, Lv Q, Li X, Wu Y, Feng Q, Jiang Z, Zhou Y, Zheng Y, Gao Z, Zhou J, Jiang C, Huang S, Li J. Sema3A secreted by sensory nerve induces bone formation under mechanical loads. *Int J Oral Sci*. 2024;16:5.
17. Gao X, Murphy MM, Peyer JG, Ni Y, Yang M, Zhang Y, Guo J, Kara N, Embree C, Tasdogan A, Ubellacker JM, Crane GM, Fang S, Zhao Z, Shen Bo, Morrison SJ. Leptin receptor⁺ cells promote bone marrow innervation and regeneration by synthesizing nerve growth factor. *Nat Cell Biol*. 2023;25:1746-1757.
18. Mosialou I, Shikkel S, Liu JM, Maurizi A, Luo N, He Z, Huang Y, Zong H, Friedman RA, Barasch J, Lanzano P, Deng L, Leibel RL, Rubin M, Nickolas T, Chung W, Zeltser LM, Williams KW, Pessin JE, Kousteni S. MC4R-dependent suppression of appetite by bone-derived lipocalin 2. *Nature*. 2017;543:385-390.
19. Sato M, Asada N, Kawano Y, Wakahashi K, Minagawa K, Kawano H, Sada A, Ikeda K, Matsui T, Katayama Y. Osteocytes regulate primary lymphoid organs and fat metabolism. *Cell Metab*. 2013;18:749-758.
20. Tatsumi S, Ishii K, Amizuka N, Li M, Kobayashi T, Kohno K, Ito M, Takeshita S, Ikeda K. Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction. *Cell Metab*. 2007;5:464-475.

21. Frey JL, Zhu Li, Ellis JM, Zhang Q, Farber CR, Aja S, Wolfgang MJ, Clemens TL, Riddle RC. Wnt-Lrp5 signaling regulates fatty acid metabolism in the osteoblast. *Mol Cell Biol.* 2015;35:1979–1991.
22. Dole NS, Betancourt-Torres A, Kaya S, Obata Y, Schurman CA, Yoon J, Yee CS, Khanal V, Luna CA, Carroll M, Salinas JJ, Miclau E, Acevedo C, Alliston T. High-fat and high-carbohydrate diets increase bone fragility through TGF- β -dependent control of osteocyte function. *JCI Insight.* 2024;9:e175103.
23. Kim SP, Frey JL, Zhu Li, Kushwaha P, Zoch ML, Tomlinson RE, Da H, Aja S, Noh HL, Kim JK, Hussain MA, Thorek DLJ, Wolfgang MJ, Riddle RC. Sclerostin influences body composition by regulating catabolic and anabolic metabolism in adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114:E11238–E11247.
24. Li Z, Shi B, Na Li, Sun J, Zeng X, Huang R, Bok S, Chen X, Han J, Yallowitz AR, Debnath S, Cung M, Ling Z, Zhong C-Q, Hong Y, Li G, Koenen M, Cohen P, Su X, Lu H, Greenblatt MB, Xu R. Bone controls browning of white adipose tissue and protects from diet-induced obesity through Schnurri-3-regulated SLIT2 secretion. *Nat Commun.* 2024;15:6697.
25. Dong B, Hiasa M, Higa Y, Ohnishi Y, Endo I, Kondo T, Takashi Y, Tsoumpria M, Kainuma R, Sawatsubashi S, Kiyonari H, Shioi G, Sakaue H, Nakashima T, Kato S, Abe M, Fukumoto S, Matsumoto M. Osteoblast/osteocyte-derived interleukin-11 regulates osteogenesis and systemic adipogenesis. *Nat Commun.* 2022;13:7194.
26. Widjaja AA, Lim W-W, Viswanathan S, Chothani S, Corden B, Dasan CM, Goh JWT, Lim R, Singh BK, Tan J, Pua CJ, Lim SY, Adami E, Schafer S, George BL, Sweeney M, Xie C, Tripathi M, Sims NA, Hübner N, Petretto E, Withers DJ, Ho L, Gil J, Carling D, Cook SA. Inhibition of IL-11 signalling extends mammalian healthspan and lifespan. *Nature.* 2024;632:157–165.
27. Xie H, Cui Z, Wang L, Xia Z, Hu Y, Xian L, Li C, Xie L, Crane J, Wan M, Zhen G, Bian Q, Yu B, Chang W, Qiu T, Pickarski M, Duong LT, Windle JJ, Luo X, Liao E, Cao X. PDGF-BB secreted by preosteoclasts induces angiogenesis during coupling with osteogenesis. *Nat Med.* 2014;20:1270–1278.
28. Santhanam L, Liu G, Jandu S, Su W, Wodu BP, Savage W, Poe A, Liu X, Alexander LM, Cao X, Wan M. Skeleton-secreted PDGF-BB mediates arterial stiffening. *J Clin Invest.* 2021;131:e147116.
29. Liu X, Chai Y, Liu G, Su W, Guo Q, Lv X, Gao P, Yu B, Ferbeyre G, Cao X, Wan M. Osteoclasts protect bone blood vessels against senescence through the angiogenin/plexin-B2 axis. *Nat Commun.* 2021;12:1832.
30. Liao P, Chen L, Zhou H, Mei J, Chen Z, Wang B, Feng JQ, Li G, Tong S, Zhou J, Zhu S, Qian Y, Zong Y, Zou W, Li H, Zhang W, Yao M, Ma Y, Ding P, Pang Y, Gao C, Mei J, Zhang S, Zhang C, Liu D, Zheng M, Gao J. Osteocyte mitochondria regulate angiogenesis of transcortical vessels. *Nat Commun.* 2024;15:2529.
31. Ishikawa M, Hasanali ZS, Zhao Y, Das A, Lavaert M, Roman CJ, Londregan J, Allman D, Bhandoora A. Bone marrow plasma cells require P2RX4 to sense extracellular ATP. *Nature.* 2024;626:1102–1107.
32. Riquelme MA, Xuewei Wang, Francisca M Acosta, Zhang J, Chavez J, Gu S, Zhao P, Xiong W, Zhang N, Li G, Srinivasan S, Ma C, Rao MK, Sun L-Z, Zhang N, An Z, Jiang JX. Antibody-activation of connexin hemichannels in bone osteocytes with ATP release suppresses breast cancer and osteosarcoma malignancy. *Cell Rep.* 2024;43:114377.
33. Xiao M, Zhang W, Liu W, Mao L, Yang J, Hu L, Zhang S, Zheng Y, Liu A, Song Q, Li Y, Xiao G, Zou Z, Bai X. Osteocytes regulate neutrophil development through IL-19: a potent cytokine for neutropenia treatment. *Blood.* 2021;137:3533–3547.
34. Wu Y, Ai H, Xi Y, Tan J, Qu Y, Xu J, Luo F, Dou C. Osteoclast-derived apoptotic bodies inhibit naive CD8 $^{+}$ T cell activation via Siglec15, promoting breast cancer secondary metastasis. *Cell Rep Med.* 2023;4:101165.
35. Engblom C, Pfirsichke C, Zilionis R, Martins JDS, Bos SJ, Courties G, Rickelt S, Severe N, Baryawno N, Faget J, Savova V, Zemmour D, Kline J, Siwicki M, Garris C, Pucci F, Liao H-W, Lin Y-J, Newton A, Yaghi OK, Iwamoto Y, Tricot B, Wojtkiewicz GR, Nahrendorf M, Cortez-Retamozo V, Meylan E, Hynes RO, Demay M, Klein A, Bredella MA, Scadden DT, Weissleder R, Pittet MJ. Osteoblasts remotely supply lung tumors with cancer-promoting SiglecFhigh neutrophils. *Science.* 2017;358:eaal508.
36. D'Amico L, Mahajan S, Capietto AH, Yang Z, Zamani A, Ricci B, Bumpass DB, Meyer M, Xinming Su, Wang-Gilliam A, Katherine K, Stewart SA, DeNardo DG, Faccio R. Dickkopf-related protein 1 (Dkk1) regulates the accumulation and function of myeloid derived suppressor cells in cancer. *J Exp Med.* 2016;213:827–40.
37. Frodermann V, Rohde D, Courties G, Severe N, Schloss MJ, Amatullah H, McAlpine CS, Creme S, Hoyer FF, Ji F, van Koeverden JD, Herisson F, Honold L, Masson GS, Zhang S, Grune J, Iwamoto Y, Schmidt SP, Wojtkiewicz GR, Lee I-H, Gustafsson K, Pasterkamp G, de Jager SCA, Sadreyev RI, MacFadyen J, Libby P, Ridker P, Scadden DT, Naxerova K, Jeffrey KL, Swirski FK, Nahrendorf M. Exercise reduces inflammatory cell production and cardiovascular inflammation via instruction of hematopoietic progenitor cells. *Nat Med.* 2019;25:1761–1771.
38. Collins N, Han S-J, Enamorado M, Link VM, Huang B, Moseman EA, Kishton RJ, Shannon JP, Dixit D, Schwab SR, Hickman HD, Restifo NP, McGavern DB, Schwartzberg PL, Belkaid Y. The Bone Marrow Protects and Optimizes Immunological Memory during Dietary Restriction. *Cell.* 2019;171:1088–1101.e15.
39. Nagai M, Noguchi R, Takahashi D, Morikawa T, Koshida K, Komiyama S, Ishihara N, Yamada T, Kawamura Y, Muroi K, Hattori K, Kobayashi N, Fujimura Y, Hirota M, Matsumoto R, Aoki R, Tamura-Nakano M, Sugiyama M, Katai T, Sato S, Takubo K, Dohi T, Hase K. Fasting-Refeeding Impacts Immune Cell Dynamics and Mucosal Immune Responses. *Cell.* 2019;178:1072–1087.e14.
40. Elbaz B, Darwish A, Vardy M, Isaac S, Tokars HM, Dzhashiashvili Y, Korshunov K, Prakriya M, Eden A, Popko B. The bone transcription factor Osterix controls extracellular matrix- and node of Ranvier-related gene expression in oligodendrocytes. *Neuron.* 2024;112:247–263.

41. Li J, Wang H, Ma P, Li T, Ren J, Zhang J, Zhou M, He Y, Yang T, He W, Mi M-T, Liu Y-T, Dai S-S. Osteocalcin-expressing neutrophils from skull bone marrow exert immunosuppressive and neuroprotective effects after TBI. *Cell Rep.* 2024;43:114670.
42. Wei W, Riley NM, Lyu X, Shen X, Guo J, Raun SH, Zhao M, Moya-Garzon MD, Basu H, Tung AS-H, Li VL, Huang W, Wiggenhorn AL, Svensson KJ, Snyder MP, Bertozzi CR, Long JZ. Organism-wide, cell-type-specific secretome mapping of exercise training in mice. *Cell Metab.* 2023; 35:1261-1279.
43. Alvarez-Castelao B, Schanzenbächer CT, Hanus C, Glock C, Dieck ST, Dörrbaum AR, Bartnik I, Nassim-Assir B, Cirdaeva E, Mueller A, Dieterich DC, Tirrell DT, Langer JD, Schuman EM. Cell-type-specific metabolic labeling of nascent proteomes in vivo. *Nat Biotechnol.* 2017;35: 1196-1201.
44. Alvarez-Castelao B, Schanzenbächer CT, Langer JD, Schuman EM. Cell-type-specific metabolic labeling, detection and identification of nascent proteomes in vivo. *Nat Protoc.* 2019;14:556-575.
45. Asano T, Okamoto K, Nakai Y, Tsutsumi M, Muro R, Suematsu A, Hashimoto K, Okamura T, Ehata S, Nitta T, Takayanagi H. Soluble RANKL is physiologically dispensable but accelerates tumour metastasis to bone. *Nat Metab.* 2019;1:868-875.

骨・軟骨・筋科学 Update 2024年秋号(第7号)

発行日：2024年12月5日

発行：JSBMR 一般社団法人 日本骨代謝学会 The Japanese Society for Bone and Mineral Research

制作：国際医学出版株式会社