

平成 29 年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	癌の骨転移における骨特異的血管と腫瘍特異血管が及ぼす組織学的影響	
新規・継続の別	新規・継続	
研究代表者	所属	北海道大学大学院歯学研究院 硬組織発生生物学教室
	職名・氏名	教授・網塚 憲生
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	特任准教授・樋田 京子
研究目的 (300 字程度)	<p>乳癌をはじめとする癌の骨転移では、療養生活を送る期間が比較的に長く、また治癒の目安とされる 10 年を越えてから生じる傾向が高いことから、骨転移対策は重要である。一方、近年では骨には骨特異血管 CD31^{high}/Emcin^{high}があること、マウスの骨転移モデルでは骨特異血管の割合が減少し骨形成劣勢となることで破骨細胞による骨吸収亢進や高カルシウム血症を誘導する可能性が指摘されている。したがって、乳癌の骨転移巣では骨特異的ではなく、腫瘍特異的血管が形成される可能性がある。本研究では、腫瘍血管研究を行ってきた樋田特任准教授と共に、骨特異的血管から腫瘍特異的血管への変移による癌の骨転移環境やその細胞学的なメカニズムを解明する。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>癌の骨転移は、原発巣からの腫瘍細胞の遊離・血管内侵入、腫瘍細胞の血液中での生存、骨転移組織における腫瘍細胞の血管外浸潤、骨微小環境の形成、骨組織における血管新生、腫瘍細胞の増殖という流れで成立する。したがって、骨転移形成には血管との関わりが深い。近年では骨特異血管、さらに腫瘍特異血管の分子生物学的な特徴がわかってきた。本研究ではこれらの関係について組織学的に検討を行ってきた。</p> <p>はじめに、非担癌マウス、乳癌骨転移モデルマウス（マウス乳癌細胞株 4T1 の同所移植）、骨転移をしない腫瘍の担癌マウス（マウス肺癌細胞株 LLC の皮下移植）を準備し、骨（大腿骨・頸骨）を摘出した。それぞれ Luc 発現癌細胞株を用いており、in vivo イメージング装置 IVIS Spectrum で骨転移の有無を確認した。ホルマリン固定後に脱灰処理を行い、組織標本を作製した。</p> <p>H-E 染色により骨組織像を観察したところ、乳癌担癌マウスの骨組織では炎症性細胞浸潤が多く認められた。これまで、Hida らは口腔癌、腎癌、メラノーマ、脂肪肉腫などの様々な癌由来の腫瘍血管内皮細胞を分離・培養し、それらの分子生物学的特徴を明らかにして</p>	

	<p>きた。その中で、腫瘍血管内皮細胞には正常血管内皮細胞と比較して特異的な遺伝子発現パターンを示すことを見出してきた。またその腫瘍血管特異的マーカーには、炎症性サイトカインが多く含まれている。これらは、原発巣のみならず転移巣でもあてはまる可能性が高い。骨組織で認められた炎症性反応に、腫瘍血管特異的な分子が関与するかどうか、現在では組織免疫染色法により検討を進めている。さらに癌細胞のみならず、骨微小環境を構成する様々な間質細胞との相互作用について、サイトカインレセプターの発現の有無など検討を進めている。今後さらに経時的な変化についても明らかにしていく予定である。</p>
<p>成果</p>	<p>【学会報告】</p> <p>参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 網塚憲生、長谷川智香： 骨の細胞に対する PTH 作用の組織学的知見。 ワークショップ：08 二次性副甲状腺機能亢進症治療の新たな知見 第 62 回日本透析医学会学術集会・総会 横浜 2017 年 6 月 16-18 日 2. 網塚憲生、長谷川智香、山本知真也： ミニモデリングと骨リモデリングにおける骨形成—組織化学・微細構造学的知見—。 イブニングセミナー2 第 37 回日本骨形態計測学会 大阪 2017 年 6 月 22-24 日 日本骨形態計測学会雑誌 27(1):S88, 2017. 3. 長谷川智香、網塚憲生： FIB-SEM を用いた骨の細胞群の三次元微細構造イメージング。 シンポジウム 1「電子顕微鏡・光学顕微鏡による最先端・骨イメージング」 第 37 回日本骨形態計測学会 大阪 2017 年 6 月 22-24 日 日本骨形態計測学会雑誌 27(1) : S57, 2017. 4. 山本知真也、長谷川智香、網塚憲生： 副甲状腺ホルモン (PTH) 単回投与後における大腿骨の組織化学的变化について。 第 37 回日本骨形態計測学会 大阪 2017 年 6 月 22-24 日 日本骨形態計測学会雑誌 27(1) : S99, 2017. 5. 長谷川智香、網塚憲生： aklotho/FGF23 破綻による骨組織石灰化異常は低リン食給餌により回復する。 第 37 回日本骨形態計測学会 大阪 2017 年 6 月 22-24 日 日本骨形態計測学会雑誌 27(1) : S109, 2017. 6. 工藤愛、長谷川智香、網塚憲生： マウス長管骨における sclerostin と FGF23 産生細胞の経時的局在変化。 第 37 回日本骨形態計測学会 大阪 2017 年 6 月 22-24 日 日本骨形態計測学会雑誌 27(1) : S114, 2017. 7. 長谷川智香、山本知真也、網塚憲生： kl/kl マウスにおける基質小胞性石灰化の抑制メカニズムについて。 第 35 回日本骨代謝学会学術集会 福岡 2017 年 7 月 27-29 日 プログラム・抄

録集：168, 2017.

8. 山本知真也、長谷川智香、網塚憲生：骨芽細胞特異的 PTHrP 過剰発現マウスの骨における組織化学・微細構造学的解析。第 35 回日本骨代謝学会学術集会 福岡 2017 年 7 月 27-29 日 プログラム・抄録集：175, 2017.
9. 永井伯弥、長谷川智香、横山敦郎、網塚憲生：骨芽細胞から骨細胞へのスイッチングにおける podoplanin の局在。日本解剖学会第 63 回東北・北海道連合支部学術集会 弘前 2017 年 9 月 9-10 日 プログラム・抄録集：53, 2017.
10. 網塚憲生、長谷川智香、中島友紀：Osteocyte Biology オーバービュー。アップデートシンポジウム 10 第 59 回歯科基礎医学会学術大会 塩尻 2017 年 9 月 16-18 日 プログラム・抄録集：145, 2017.
11. 長谷川智香、永井伯弥、本郷裕美、網塚憲生：骨芽細胞から骨細胞へ：微細構造学的知見。アップデートシンポジウム 10 第 59 回歯科基礎医学会学術大会 塩尻 2017 年 9 月 16-18 日 プログラム・抄録集：147, 2017.
12. 長谷川智香、本郷裕美、網塚憲生：骨基質石灰化における局所リン酸供与と FGF23/klotho シグナル。アップデートシンポジウム 16 第 59 回歯科基礎医学会学術大会 塩尻 2017 年 9 月 16-18 日 プログラム・抄録集：170, 2017.
13. 山本恒之、長谷川智香、本郷裕美、網塚憲生：骨端板に侵入する毛細血管の形態に関する走査型電子顕微鏡観察。第 59 回歯科基礎医学会学術大会 塩尻 2017 年 9 月 16-18 日 プログラム・抄録集：419, 2017.
14. 網塚憲生：顕微鏡解析からみたビスホスホネート製剤の作用機序。イブニングセミナー1 第 19 回日本骨粗鬆症学会 大阪 2017 年 10 月 20 日-22 日 第 19 回日本骨粗鬆症学会プログラム抄録号：220, 2017.
15. 長谷川智香、網塚憲生：骨の細胞・組織における微細構造解析～FIB-SEM・SIM・STED による新規イメージング～。シンポジウム 第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会 東京 2018 年 3 月 28-30 日 プログラム・抄録集：98, 2018.
16. 前 壮功仁、山本知真也、趙 申、邱 紫璇、長谷川智香、山崎裕、網塚憲生：PTH 間歇投与マウスの骨組織におけるリン酸イオン供与膜輸送体・酵素群の局在。第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会 東京 2018 年 3 月 28-30 日 プログラム・抄録集：178, 2018.
17. 吉野弘菜、長谷川智香、邱 紫璇、坪井香奈子、本郷裕美、網塚憲生：アレンドロネートが骨芽細胞系細胞と骨特異性血管

に及ぼす組織学的影響. 第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会 東京 2018 年 3 月 28-30 日 プログラム・抄録集:179, 2018.

【論文発表】

著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと

1. Simomura-Kuroki J., Farooq M., Sekimoto T., **Amizuka N.**, Simomura Y.: Characterization of a PTH1R missense mutation responsible for Jansen type metaphyseal chondrodysplasia. *Odontology*. 105(2):150-154, 2017. (IF: 1.602)
2. Hikone K., Hasegawa T., Tsuchiya E., Hongo H., Sasaki M., Yamamoto T., Kudo A., Oda K., Haraguchi M., Freitas PHL., Li M., Iida J., **Amizuka N.**: Histochemical examination on periodontal tissues of Klotho-deficient mice fed with phosphate insufficient diet. *J Histochem Cytochem*. 65(4): 207-221, 2017. (IF:2.511)
3. Toraya H., Hasegawa T., Sakagami N., Tsuchiya E., Kudo A., Zhao S., Moritani Y., Abe M., Yoshida T., Yamamoto T., Yamamoto T., Oda K., Udagawa N., Freitas PHL., Li M., **Amizuka N.**: Histochemical assessment for osteoblastic activity coupled with dysfunctional osteoclasts in c-src deficient mice. *Biomed Res*. 38(2): 123-134, 2017. (IF:0.912)
4. Sun J., Du J., Feng W., Lu B., Liu H., Guo J., **Amizuka N.**, Li M.: Histological evidence that metformin reverses the adverse effects of diabetes on orthodontic tooth movement in rats. *J Mol Histol*. 48(2):73-81, 2017. (IF:2.362)
5. Kono M., Hasegawa T., Nagai S., Odani T., Akikawa K., Nomura Y., Sato H., Kikuchi K., **Amizuka N.**, Kikuchi H.: Palisaded neutrophilic and granulomatous dermatitis as a novel cause of hypercalcemia. *Medicine*. 96(21): e6968, 2017. (IF:1.804)
6. Luo T., Liu H., Feng W., Liu D., Du J., Sun J., Wang W., Han X., Guo J., **Amizuka N.**, Li X., Li M.: Adipocytes enhance expression of osteoclast adhesion-related molecules through the CXCL12/CXCR4 signalling pathway. *Cell Prolif*. 50(3): doi: 10.1111/cpr.12317. Epub 2016 Nov 21 [Epub ahead of print], 2017. (IF:4.112)
7. Sakurai A., Hasegawa T., Kudo A., Zhao S., Nagai T., Abe M., Yoshida T., Hongo H., Yamamoto T., Yamamoto T., Oda K., Freitas de PHL., Li M., Sano H., **Amizuka N.**: Chronological immunolocalization of sclerostin and FGF23 in the mouse metaphyseal trabecular and cortical bone. *Biomed Res*. 38(4):257-267, 2017. (IF:0.912)
8. Murakami S., Miyaji H., Nishida E., Kawamoto K., Miyata S., Takita

- H., Akasaka T., Fugetsu B., Iwanaga T., Hongo H., **Amizuka N.**, Sugaya T., Kawanami M.: Dose effects of beta-tricalcium phosphate nanoparticles on biocompatibility and bone conductive ability of three-dimensional collagen scaffolds. *Dental Material Journal*. 36(5):573-583, 2017. (IF:1.073)
9. Tabeta K., Du X., Arimatsu K., Yokoji M., Takahashi N., **Amizuka N.**, Hasegawa T., Crozat K., Maekawa T., Miyauchi S., Matsuda Y., Ida T., Kaku M., Hoebe K., Ohno K., Yoshie H., Yamazaki K., Moresco EMY., Beutler B.: An ENU-induced splice site mutation of mouse Col1a1 causing recessive osteogenesis imperfecta and revealing a novel splicing rescue. *Sci Rep*. 7(1):11717, 2017. (IF:4.259)
 10. Omiya T., Hirose J., Hasegawa T., **Amizuka N.**, Omata Y., Izawa N., Yasuda H., Kadono Y., Matsumoto M., Nakamura M., Miyamoto T., Tanaka S.: The effect of switching from teriparatide to anti-RANKL antibody on cancellous and cortical bone in ovariectomized mice. *Bone*. 107:18-26, 2017. (IF:4.140)
 11. Cui P., Liu H., Sun J., **Amizuka N.**, Sun Q., Li M.: Zoledronate promotes bone formation by blocking osteocyte-osteoblast communication during bone defect healing. *Histol. Histopath.* 33(1):89-99, 2018. (IF:2.025)
 12. Hasegawa T., Yamamoto T., Tsuchiya E., Hongo H., Tsuboi K., Kudo A., Abe M., Yoshida T., Nagai T., Khadiza N., Yokoyama A., Oda K., Ozawa H., Freitas de PHL., Li M., **Amizuka N.**: Ultrastructural and biochemical aspects of matrix vesicle-mediated mineralization. *Japanese Dental Science Review*. 53(2):34-45, 2017. (IF:なし)
 13. **Amizuka N.**, Hasegawa T., Yamamoto T., Mae T., Qiu Z., Kudo A., Abe M., Zhao S., Nagai T., Yokoyama A., Khadiza N., Haraguchi M., Yamamoto T., de Freitas PHL., Li M.: Cellular function of osteocytes in normal and α 1(I)-deficient mice. *Hokkaido of Dent Sci*. 38(Special issue):56-62, 2017. (IF:なし)
 14. Hongo H., Sasaki M., Hasegawa T., Tsuboi K., Qiu Z., **Amizuka N.**: Isotope microscopic assessment for localization of ^{15}N -minodeonate in bone. *Hokkaido of Dent Sci*. 38(2):1-8, 2018. (IF:なし)
 15. Hasegawa T., Yamamoto T., Hongo H., Qiu Z., Abe M., Kanesaki T., Tanaka K., Endo T., Freitas PHL., Li M., **Amizuka N.**: Three-dimensional ultrastructure of osteocytes assessed by focused ion beam-scanning electron microscopy (FIB-SEM). *Histochem Cell Biol*. in press. (IF:2.553)
 16. **Amizuka N.**, Kitazawa S.: In focus in HCB: Hard Tissue Biology.

	<i>Histochem Cell Biol. in press. (IF:2.553)</i>
	【新聞報道】 なし