

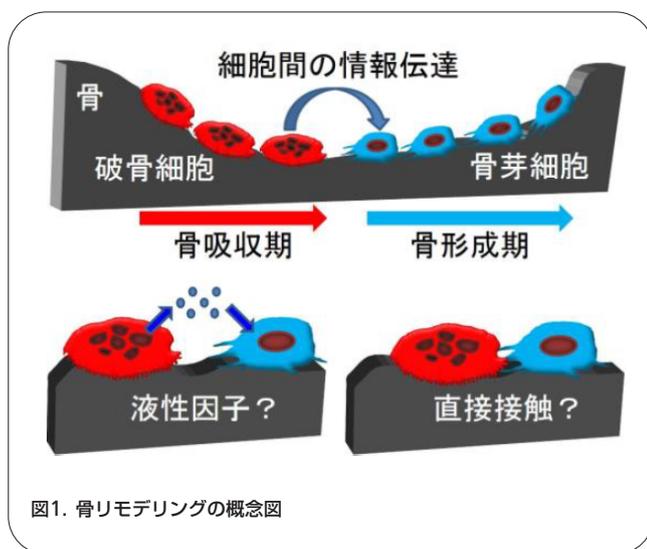
生きた骨組織内の骨芽細胞と破骨細胞の相互作用を可視化する技術を開発

大阪大学大学院医学系研究科の石井優教授（免疫細胞生物学）らの研究グループは、組織深部の観察が可能な多光子共焦点レーザー顕微鏡システムA1R MP+を使用して、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た。本アプリケーションノートでは、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た例を紹介する。

実験の背景

骨は、常に新しく生まれ変わるダイナミックな臓器である。破骨細胞と骨芽細胞が協調して働くことによって骨リモデリングが行われ、骨の構造が緻密に形成される。しかし、加齢や炎症などにより両者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の原因となる。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ある。

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いるが、骨芽細胞と破骨細胞が互いに情報を伝達する仕組みや、骨リモデリングの実態については議論の余地があった(図1)。そこで、石井教授らの研究グループは、多光子顕微鏡を骨組織のライブイメージングの評価系として利用し、生体骨組織内において、骨芽細胞と破骨細胞の挙動を時間的、空間的に解像度良く観察できるかを検証した。

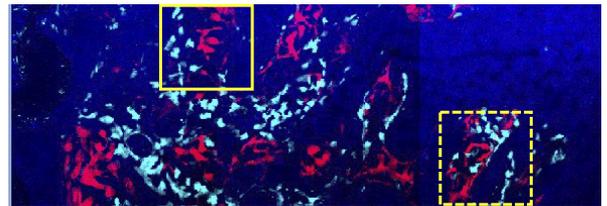


結果

石井教授らは、独自の生体イメージング技術を用いて生体骨組織内の骨芽細胞と破骨細胞を同時に可視化し、両者が相互作用する瞬間を捉えることに成功した。

その結果、それぞれ数十細胞単位で小集団を形成している骨芽細胞と破骨細胞は、両者の境界部分のほとんどにおいて相互の接触が観察されないが、一部の領域においては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った。この細胞間コミュニケーションの多くにおいて、破骨細胞の突起が神経シナプス様に骨芽細胞へ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た(図2)。

全体図



拡大図

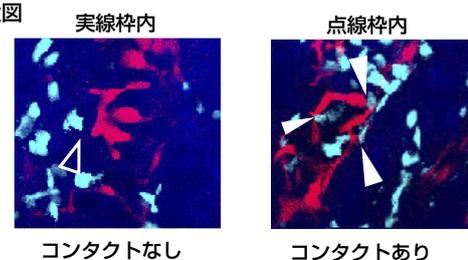


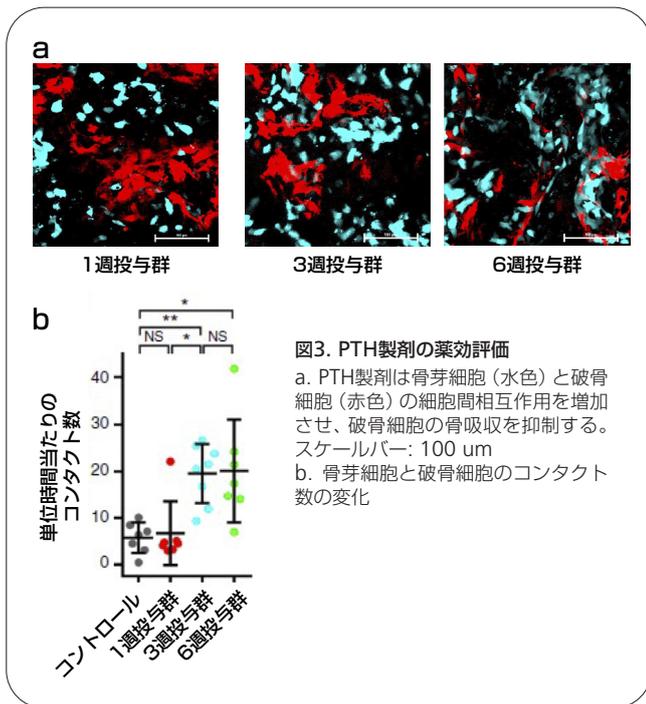
図2. 生きた骨の内部のイメージング

Col2.3-ECFPを発現する骨芽細胞（水色）とTRAP-tdTomatoを発現する破骨細胞（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た。青色はSHGで可視化した骨組織。
対物レンズ：CFI75アポクロマート25XC W 1300 (NA 1.10)

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、破骨細胞が出す酸を感知することで蛍光を発するpH応答性蛍光プローブを活用し、ライブイメージングを行った。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った。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った。

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、検討を行った。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^{*}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。PTH製剤の治療効果の経時変化を分析するために、PTH製剤を1週間、3週間、および6週間投与した群で比較検討した。その結果、PTH製剤を3週間以上投与した群で、骨芽細胞と破骨細胞の直接的な細胞間接触の増加が認められた(図3a及び図3b)。これらの結果より、PTH製剤は生体内で、骨芽細胞と破骨細胞の相互作用を増加させ、破骨細胞の機能を抑制することで骨量を増加させるという仕組みが明らかとなった。

^{*}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が承認された。副甲状腺ホルモン(PTH)製剤は、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おり、骨形成を促進する薬剤として初めて承認された。



まとめ

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あった。しかし、本研究により、生きたままの骨の表面の4次元での詳細な可視化が可能となり、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解明された。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の開発が期待される。

参考文献

Direct cell-cell contact between mature osteoblasts and osteoclasts dynamically controls their functions *in vivo*
NATURE COMMUNICATIONS | DOI: 10.1038/s41467-017-02541-w

製品情報

高速多光子共焦点レーザー顕微鏡システム A1R MP+

レゾナント及びガルバノスキャナーを搭載しており、画像の高速取得と高解像度取得を両立している。1300 nmレーザーによる2波長IR同時励起にも対応可能である。正立・倒立いずれの顕微鏡にも搭載できる上、1光子共焦点顕微鏡としても使用可能なシステムである。

- ・高速：最速毎秒720フレーム (512x16画素)
- ・高解像度：最大4096 x 4096画素

