

骨粗鬆症発症メカニズムの解明と創薬開発への試み（26-17）

主任研究者 竹下 淳 国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部・骨代謝制御研究室（室長）

研究要旨

3年間全体について

骨は、生命維持に必須なカルシウムやリンなどのミネラルの恒常性を確保するための貯蔵器官として働くだけでなく、常に壊されては新たに造られるリモデリング（改造）サイクルを繰り返すことで強度としなやかさが維持され、体の支持体として運動機能を発揮する。骨粗鬆症に代表される代謝性骨疾患では、この骨のリモデリング制御が破綻することが原因と考えられる。このサイクルの中の骨吸収から骨形成へのカップリング（共役）機構は骨の改変を制御する最も大切な仕組みでありながら長らく未解明の研究課題であった。主任研究者らは、骨代謝の新しいメカニズムの一つであるカップリング機構を分子レベルで解明することにより骨粗鬆症の新規診断薬及び治療薬の開発へ応用することを企画する。すなわち、カップリング因子として *Cthrc1* を同定し(JCI 2013)、その骨形成促進性を利用して骨粗鬆症治療薬の開発へ応用することを目指している。*Cthrc1* の骨形成促進に関わるシグナル伝達機構を解明するために *Cthrc1* の受容体の同定を試み、*Wnt* のシグナルを抑制する膜分子を見出した。*Cthrc1* はこの分子に直接結合し、骨芽細胞分化を促進することが分かった。そこで、骨芽細胞特異的ノックアウト(cKO)マウスを作成し、骨解析により骨形成と骨吸収の両方が共に低下し、低骨代謝回転型で高骨量を発症することが分かった。また、血中スクレロスタチン値が高いことから *Cthrc1* は *Wnt* シグナルとクロストークすることにより骨代謝を制御することが示された。従って、この受容体分子に結合する抗体薬や低分子化合物が新規骨粗鬆症治療薬のシーズとなる可能性が強く示唆された。

Cthrc1 と同様、破骨細胞が産生する補体成分 C3a がカップリング因子として働くことを明らかにした(J Bone Miner Res 2014)。また、破骨細胞が産生するカップリング因子として注目されている PDGF に関する詳細な研究結果と破骨細胞の分化に関する研究成果を論文に発表した(BBRC 2015, Bone 2015)。さらに、カップリング機能に異常があるマウスの代表例として破骨細胞機能不全 *Src* KO マウスと破骨細胞欠損 *RANKL* KO マウスの骨代謝マーカー及び骨解析を行い、これまでに報告されていない骨吸収機能や骨芽細胞の活性、及び異常な骨細胞の存在を明らかにした(JBMM 2017)。

平成28年度について

Cthrc1 の受容体として同定した受容体 X の骨芽細胞特異的 cKO マウスの骨における組織学的解析を行い、骨形成のみならず骨吸収も低下することがわかり、低骨代謝回転型で骨形成が骨吸収を上回ることで高骨量を発症することを突き止めた。骨形成低下の原因は骨芽細胞において受容体 X を介した Cthrc1 からの刺激が入らないことで PKC δ /ERK 経路が障害されることで骨形成が低下することが示唆された。また、骨吸収の低下は骨芽細胞において受容体 X の欠失により破骨細胞分化因子である Rankl の遺伝子発現が低下することが原因であることを突き止めた。可溶性受容体 X を受容体 X sKO マウスに免疫し、モノクローナル抗体を作成した。ST2 細胞を用いて CRISPR/Cas9 法により受容体 X KO 細胞、及びレトロウィルスの発現系を用いて受容体 X 過剰発現細胞株を樹立した。それらの細胞株を用いて FACS により受容体 X を認識するモノクローナル抗体をスクリーニングした。大理石骨病マウスモデルである Src KO と RANKL KO マウスの血清、及び大腿骨と脛骨をサンプリングし、生化学的性状、マイクロ CT 解析と骨形態計測により骨解析を行った。

主任研究者

竹下 淳 国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部・骨代謝制御研究室 (室長)

分担研究者

池田 恭治 国立長寿医療研究センター 運動器疾患研究部 (部長) (平成26年度と27年度のみ)

伊東 昌子 長崎大学病院メディカルワークライフバランスセンター (教授)

研究期間 平成26年4月1日～平成29年3月31日

A. 研究目的

骨粗鬆症患者の治療と骨折予防として主にビスホスホネート薬が使われているが、一旦減少した骨を増やしたり骨質を改善する作用はない。唯一アナボリック効果が期待される副甲状腺ホルモン(PTH)は薬価が高く副作用の問題があることから使用が制限されているために安価で骨を増やすアナボリック薬の開発が求められている。

主任研究者らは、これまでに破骨細胞が産生し骨形成を促進するカップリング因子の探索を行い、Cthrc1 と C3a を同定した。本研究では、Cthrc1 の受容体分子を同定し、カップリングのシグナル伝達機構を解明することにより、このメカニズムを応用し骨粗

鬆症をターゲットとした骨形成促進薬の創薬開発の基盤を築くことを目的とする。

B. 研究方法

3年間全体について

Cthrc1の受容体として受容体Xを同定し、**Cthrc1**刺激により受容体Xを介したシグナルに重要な機能分子を特定することにより**Cthrc1**のシグナル伝達経路を解析した。**Cthrc1**の受容体である受容体Xの骨芽細胞特異的cKOマウスを作出し、骨代謝における機能解析を行った。

これまでに**Cthrc1**刺激によるシグナル伝達分子として**PKC δ**、**ERK**、**JNK**、及び**Rac1**が重要であることを見出した。これら4つの分子の中から骨芽細胞分化を促進するのに必須な分子を特定した。**Cthrc1**の受容体の候補として受容体Xを同定したので、骨代謝における機能を解明するために受容体Xのfloxマウスを作出し、全身及び骨芽細胞特異的KOマウスを作成するために**CAG-cre**マウス、及び**Osterix-cre**マウスと交配し、それぞれシステミックノックアウト(sKO)、及び骨芽細胞特異的cKOマウスを大量に増やし、骨解析を行った。さらに、**RANKL**投与によるカップリング機能の評価系を用いてcKOマウスを評価し、受容体Xのカップリング機能における役割を解析した。**Cthrc1**シグナルをミミックする低分子化合物をスクリーニングするための細胞株を構築するためにsKOマウスの頭頂骨由来初代骨芽細胞から3T3法により細胞株を樹立した。また、**CRISPR/Cas9**法を用いてST2細胞で受容体Xや**Ror2**をKOした細胞株を樹立し、これらの細胞株を用いて受容体Xを介した**Cthrc1**のシグナル伝達経路を解析した。**Src** KO、及び**RANKL** KOマウスの血清、大腿骨と脛骨、及びそれらからRNAを抽出し、それぞれELISA法により骨代謝マーカー量の測定、マイクロCT解析と骨形態計測法による骨解析、及び遺伝子発現解析を行った。

受容体Xに対するモノクローナル抗体を作成するためにC末端領域を欠損しHis-タグのついた可溶性受容体X-His (s受容体X-His)を強発現するL細胞株を樹立し、培養上清からリコンビナントs受容体X-Hisを精製した。s受容体X-Hisをマウスに免疫し、モノクローナル抗体を作成した。受容体X KO ST2細胞株、及び受容体X過剰発現細胞株を用いてFACSにより細胞表面で発現する受容体Xを認識するモノクローナル抗体をスクリーニングした。

主任および分担研究者が開発したモデルマウスの骨量測定および骨構造・力学特性の解析はすべて、分担研究者の伊東がマイクロCT装置を使って骨解析を行った。

平成28年度について

リコンビナント**Cthrc1**を用いて野生型、受容体X KO、及び**Ror2** KO ST2細胞株を刺激し、**PKC δ**、**ERK1/2**と**JNC**のリン酸化をWestern法により、また**Rac1**の活性化によ

り **Cthrc1** のシグナル伝達経路を解析した。また、それぞれのシグナル分子の特異的阻害剤を用いて各細胞株を培養し **ALP** 活性を測定することにより **Cthrc1** 刺激で誘導される骨芽細胞分化過程を解析した。受容体 **X cKO** マウスの脛骨を組織学的に解析するために骨形態計測法により骨解析を行い、骨量増加の原因を解析した。各マウスの血清をサンプリングし、血清中の骨代謝マーカーを測定した。また、受容体 **X KO** 及び野生型マウスの骨から **RNA** を抽出し、**RT-PCR** 法により骨代謝に関連する遺伝子発現解析を行った。さらに、受容体 **X** 欠損 **ST2** 細胞株を用いて骨量増加の原因を解析した。大理石骨病マウスである **Src KO** と **RANKL KO** マウスの骨解析を行った。

一方、受容体 **X** に対するモノクローナル抗体を作成し、種々の細胞株を用いて細胞表面に発現する受容体 **X** を認識し、**Cthrc1** 刺激をミミックするモノクローナル抗体をスクリーニングした。

(倫理面への配慮)

3年間全体について

ヒト **DNA** や **ES** 細胞を用いた研究は含まれない。動物実験計画は、所属機関の遺伝子組換え実験安全委員会と動物実験倫理委員会において動物数、麻酔の方法、安楽死の方法、ストレスを和らげる方法など倫理的な側面からの審査を受け、実験は動物愛護の精神に則って実施した。

C. 研究結果

3年間全体について

ST2 細胞の膜タンパク画分からリコンビナント **Cthrc1** に結合するタンパクを分離・精製し、マスマスペクトル解析により **Cthrc1** 結合分子として受容体 **X** を同定した。**shRNA** を用いて **ST2** 細胞で受容体 **X** の遺伝子発現を阻害すると **Cthrc1** による **PKCδ** と **ERK** のリン酸化が阻害され骨芽細胞分化が抑制されたことから、受容体 **X** は **Cthrc1** の受容機構の一部であることが分かった。ところが、受容体 **X** の発現を阻害しても **ST2** に対する **Cthrc1** の結合能は低下するが、完全には消失しないことから受容体 **X** 以外に **Cthrc1** の受容体があることが示唆された。そこで、**Cthrc1** と結合することが知られている **Ror2** の発現を **shRNA** を用いて阻害したところ、**Cthrc1** に対する応答性は保持されるが **Cthrc1** に対する結合能は消失しないことから、**Ror2** は **Cthrc1** の受容体として結合するがシグナルは伝達しないことが示唆された。

受容体 **X sKO** マウスは水頭症を発症することが知られているが、その他の表現型については報告されていない。そこで、受容体 **X sKO** マウスの骨を解析したところ、水頭症を発症したグループは野生型に比べ低骨量を示したが、発症しないグループは逆に高骨量を発症することが分かった。受容体 **X cKO** マウスは、雌雄ともに3ヶ月齢と6ヶ月齢ともに野

生型に比べ有意に高骨量を示した。また、骨形態計測の結果、雌雄ともに骨形成と骨吸収の両方が低下するが、相対的に形成が吸収を上回ることにより高骨量を発症することが分かった。骨代謝マーカーである血清中の RANKL、OPG、オステオカルシン及び CTX には差異は認められず、スクレロステイン量のみが cKO マウスで高値を示したことから Wnt シグナルを抑制するスクレロステインとの相互作用が示唆された。

CRISPR/Cas9 法を用いて受容体 X 欠損 ST2 細胞株を樹立し、同様に ST2 の野生株及び受容体 X KO 株を用いて Ror2 欠損株を樹立した。2 日齢の受容体 X sKO マウス頭頂骨由来骨芽細胞を 3T3 法により株化し、限界希釈培養法によりクローナルな細胞株を樹立した。受容体 X cKO マウスの骨から抽出した RNA を用いて RT-PCR 法により骨代謝に関連する遺伝子発現解析により cKO マウスの骨で破骨細胞マーカーである Acp5 や Calcr のみならず破骨細胞分化因子である RANKL が低下していることがわかった。そこで、受容体 X KO ST2 をビタミン D₃ 存在下で培養し RANKL の発現を解析したところ野生型の ST2 に比べ RANKL の発現が低く、レトロウイルスにより受容体 X を再発現すると RANKL の発現が回復することから骨芽細胞において受容体 X の発現は RANKL 発現を転写レベルで制御していることがわかった。以上のことから、受容体 X は Cthrc1 の受容体として骨カップリング機能に重要であることが実証された。

大理石骨病モデルマウスである Src KO と RANKL KO マウスのマイクロ CT 解析を行い、脛骨幹端部の骨量はともにほぼ 100% であり、典型的な同程度の大理石骨病であることがわかった。Src KO マウスは破骨細胞の骨吸収機能不全により *in vitro* では骨吸収活性が全く検出されないにも関わらず骨吸収活性をの指標となる血中 CTX は正常値を示したことから Src 欠損により増加した破骨細胞は骨吸収に寄与する酵素群の活性により CTX 値が高いことが予想された。また、Src KO マウスには骨芽細胞数も野生型とほぼ同程度存在するのに対し、RANKL KO マウス破骨細胞と骨芽細胞の両方が欠如していた。しかしながら、Src KO マウスでは骨細胞はほとんど存在しないのに対し、RANKL KO マウスにおいては骨細胞は逆に増加していることが判明した。

次に、受容体 X の中和抗体、及び刺激抗体を作成するために His-tag 付き分泌型受容体 X タンパクを精製し、常法に従ってモノクローナル抗体を作成した。s 受容体 X-His を用いた ELISA 法による 1 次スクリーニングを行った。次に受容体 X 強制発現細胞を用いた FACS 法による 2 次スクリーニングを行い、細胞膜表面に発現する受容体 X を認識するモノクローナル抗体を選出した。さらに、現在、各ハイブリドーマ細胞の培養上清を調整し、ST2 細胞の ALP 活性を促進するクローンのスクリーニングを行っている。今後、スクリーニングした抗体をマウスに投与し、骨代謝に及ぼす影響を解析する。さらに、種々の細胞株を用いて受容体 X を介した Cthrc1 刺激をミミックする低分子化合物スクリーニング系を確立する予定である。

平成 28 年度について

骨形態計測法により受容体 X cKO マウスの高骨量の原因が骨形成と骨吸収の両方が低下した低骨代謝回転型で骨形成が骨吸収を上回ることで発症することを突き止めた。さらに、骨形成低下の原因が受容体 X 欠損による Cthrc1 刺激からの PKC δ /ERK/Rac1 シグナルの活性化が障害されること、さらに骨吸収低下は受容体 X 欠損による RANKL 遺伝子発現低下が原因であることが明らかとなった。

大理石骨病マウスの代表として破骨細胞機能不全である Src KO マウスと破骨細胞が欠損した RANKL KO マウスのマイクロ CT 解析を行い、ともに骨髓腔が骨で満たされた同程度の大理石骨病を発症することがわかり、互いにカップリング機能が異なることが示唆された。

受容体 X を認識するモノクローナル抗体を複数取得することに成功した。今後、それらの中から Cthrc1 シグナルをミミックし骨形成を促進する抗体をスクリーニングする。

D. 考察と結論

3年間全体について

骨代謝制御メカニズムの基本原理の一つであるカップリング機構は、骨吸収から骨形成へのリレーを制御する仕組みであり、この機能により骨の代謝が正常に行われることで一定の骨量及び強度を保証する健全な骨質が維持される。主任研究者らは、骨粗鬆症などの代謝性骨疾患は、カップリング機構の破綻が原因であるとの仮説のもとに、カップリング因子の探索とその作用メカニズムの解明が骨粗鬆症治療薬の開発に重要であると考えている。

主任研究者らが独自にカップリング因子として同定した Cthrc1 は、破骨細胞が産生し骨芽細胞に作用し骨形成を促進することをマウスの遺伝学的手法と新たに確立したカップリング機能を評価する *in vivo* アッセイ系を組み合わせることにより世界で初めて破骨細胞由来のカップリング因子であることを実証した分泌性タンパクである(JCI 2013)。Cthrc1 破骨細胞特異的 cKO マウスは低骨量を発症し、全身で Cthrc1 を発現するトランスジェニックマウスは高骨量を示した。また、京都大学の秋山 (現・岐阜大学) らは軟骨細胞を BMP-2 処理して発現上昇する遺伝子として Cthrc1 を同定し、sKO マウスでは発達異常が見られないものの低骨量を示すのに対して、I 型コラーゲンプロモーターを用いて骨芽細胞系で Cthrc1 を過剰発現するトランスジェニックマウスは高骨量を示すことを報告した(PLOS ONE 2008)。これらのことは我々の結果とも合致し、破骨細胞由来の Cthrc1 がアナボリック薬として働くとの我々のコンセプトを支持するものである。

理化学研究所の佐々木らは、脊索動物の初期発生において脊索特異的に発現する分子として Cthrc1 を同定し、Cthrc1 が多様な Wnt 経路のうち平面内極性に関与する Wnt/PCP 経路を選択的に活性化し、内耳の有毛細胞の配向パターンを始めとする組織形成に関与することを明らかにした(Dev Cell 2008)。彼らは、Cthrc1 が Ror2 のみならず Wnt、及びそ

の受容体である Frizzled と結合することを示した。主任研究者らは、本研究により新たに Cthrc1 が骨芽細胞系列の受容体 X と結合することを見出した。受容体 X は、腫瘍抗原として知られている 5T4 と同一分子であり、Wnt/ β カテニン経路を阻害する膜分子であることが報告されている。申請者らの実験結果から shRNA を用いて ST2 細胞で受容体 X の遺伝子発現を抑制すると、Cthrc1 の結合能も低下し、Cthrc1 による骨芽細胞の分化マーカーである ALP 活性の上昇が消失した。ところが、Ror2 の遺伝子発現を抑制しても Cthrc1 による ALP 活性の上昇は保持された。これらのことから、Cthrc1 は受容体 X と Ror2 の両方に結合するが、骨形成促進活性には受容体 X が関与することが示めされた。ST2 細胞で受容体 X と Ror2 の両方の発現を抑制しても Cthrc1 に対する結合能は完全には消失しないことから Frizzled などの他の分子が結合に関与している可能性が示唆された。

Cthrc1 シグナルをミミックする化合物のスクリーニング系を確立する目的で受容体 X sKO マウスの頭頂骨由来骨芽細胞から細胞株の樹立を試みた。2匹の受容体 X sKO マウス由来の骨芽細胞株を 16 世代培養後に限界希釈培養法によりクローニングを行い、約 20 株の樹立に成功した。今後、それぞれ樹立した細胞株の解析を行いスクリーニングに適した細胞株を選択する予定である。さらに、CRISPR/Cas9 法を用いて ST2 細胞の受容体 X と Ror2、及びその両方を欠損した細胞株の樹立を行った。今後、上記の細胞株と同様に Cthrc1 によるシグナル伝達を解析し、スクリーニングに適した細胞株を選択する。

受容体 X sKO マウスは水頭症を発症する低骨量と発症しない高骨量の 2 相性を示したが、骨芽細胞特異的受容体 X cKO マウスは雌雄ともに野生型と比較して有意に高骨量を示した。また、cKO マウスに水頭症は認められなかった。このことから水頭症は骨芽細胞以外の、主に脳で発現する受容体 X が欠損することが原因であると考えられた。骨芽細胞特異的受容体 X 欠損により Cthrc1 の刺激が消失すると骨形成が低下し低骨量を発症することが予想されたが、予想と反して有意な骨量増加を引き起こすことから Cthrc1 シグナルの複雑さが明らかとなった。Wnt アンタゴニストの一つであるスクレロスチンは、古典的 Wnt シグナルの阻害物質として同定された分子であるが、我々が作製した cKO マウスの血清スクレロスチン量が有意に高いことから、受容体 X がないことで骨芽細胞系列での Wnt シグナルに異常をきたし、その結果として骨形成が低下したと予想される。現在、受容体 X cKO マウスに RANKL を投与しカップリング機能を評価する解析を行っており、同時に血清オステオカルシンや P1NP など骨形成マーカーの測定を試みている。Cthrc1 は Wnt と協調し骨芽細胞の遊走活性を促進することが分かっているので、樹立した受容体 X 欠損細胞株を用いて Wnt との協調性が上昇しているかどうかを確認する予定である。今後、Cthrc1 シグナルを解明するには、Wnt、受容体 X、及びスクレロスチンとの関連性を明らかにすることが重要である。骨芽細胞特異的受容体 X cKO マウスが高骨量を発症することから、受容体 X に作用し骨形成を促進する抗体薬や化合物が骨粗鬆症治療薬のターゲットとして有望であることが再確認された。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

平成28年度

- 1) Takeshita S, Fumoto T, Ito M, Ikeda K. Serum CTX levels and histomorphometric analysis in Src versus RANKL knockout mice. **J Bone Miner Metab** DOI: 10.1007/s00774-017-0838-3, 2017
- 2) Takeshita S, Ikeda K.: The role of osteoclast differentiation and function in skeletal homeostasis. **J Biochem** 159:1-8, 2016
- 3) Ito M, Tbinai M, Yoshida S, Hashimoto J, Nakamura T: Effect of monthly intravenous ibandronate injections on vertebral or non-vertebral fracture risk in Japanese patients with high-risk osteoporosis in the MOVER study. **J Bone Miner Metab** 35:58-64, 2017
- 4) Nakamura T, Fukunaga M, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Hagino H, Sone T, Taguchi A, Tanaka S, Ohashi M, Ota Y, Shiraki M: Efficacy and safety of once-yearly zoledronic acid in Japanese patients with primary osteoporosis: two-year results from a randomized placebo-controlled double-blind study (ZOledroNate treatment in Efficacy to osteoporosis; ZONE study). **Osteoporos Int** 28:389-398, 2017
- 5) Moriishi T, Fukuyama R, Miyazaki T, Furuichi T, Ito M, Komori T: Overexpression of BCLXL in osteoblasts inhibits osteoblast apoptosis and increases bone volume and strength. **J Bone Miner Res** 31:1366-1380, 2016

平成27年度

- 1) Rahman MM, Takeshita S, Matsuoka K, Kaneko K, Naoe Y, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Ikeda K.: Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL: Cell density as a determinant of osteoclast formation. **Bone** 81:392-399, 2015
- 2) Rahman MM, Takeshita S, Matsuoka K, Kaneko K, Naoe Y, Sakaue-Sawano A, Miyawaki A, Ikeda K.: Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL: Cell density as a determinant of osteoclast formation. **Bone** 81:392-399, 2015
- 3) Rahman MM, Matsuoka K, Takeshita S, Ikeda K.: Secretion of PDGF isoforms during osteoclastogenesis and its modulation by anti-osteoclast drugs. **Biochem Biophys Res Commun** 462:159-164, 2015
- 4) Sugimoto T, Matsumoto T, Hosoi T, Miki T, Gorai I, Yoshikawa H, Tanaka Y, Tanaka S, Fukunaga M, Sone T, Nakano T, Ito M, Matsui S, Yoneda T, Takami H, Watanabe K, Osakabe T, Okubo N, Shiraki M, Nakamura T: Three-year denosumab treatment in postmenopausal Japanese women and men with osteoporosis: results from a 1-year open-label extension of the Denosumab Fracture Intervention Randomized Placebo Controlled Trial (DIRECT). **Osteoporos Int** 26: 765-774, 2015

平成26年度

- 1) Fumoto T, Takeshita S, Ito M, Ikeda K: Physiological functions of osteoblast lineage

- and T cell-derived RANKL in bone homeostasis. **J Bone Miner Res** 29: 830-842, 2014
- 2) Fumoto T, Ishii KA, Ito M, Berger S, Schutz G, Ikeda K: Mineralocorticoid receptor function in bone metabolism and its role in glucocorticoid-induced osteopenia. **Biochem Biophys Res Commun** 457: 407-412, 2014
 - 3) Kaneko K, Ito M, Naoe Y, Lacy-Hulbert A, Ikeda K: Integrin αv in the mechanical response of osteoblast lineage cells. **Biochem Biophys Res Commun** 447: 352-357, 2014
 - 4) Takeshita S, Fumoto T, Naoe Y, Ikeda K: Age-related marrow adipogenesis is linked to increased expression of RANKL. **J Biol Chem** 289: 16699-16710, 2014
 - 5) Matsuoka K, Park K, Ito M, Ikeda K, Takeshita S: Osteoclast-derived complement component 3a stimulates osteoblast differentiation. **J Bone Miner Res** 29: 1522-1530, 2014
 - 6) Fumoto T, Ito M, Ikeda K: Lanthanum carbonate stimulates bone formation in a rat model of renal insufficiency with low bone turnover. **J Bone Miner Metab** 32: 484-493, 2014
 - 7) Ito M, Oishi R, Fukunaga M, Sone T, Sugimoto T, Shiraki M, Nishizawa Y, Nakamura T: The effects of once-weekly teriparatide on hip structure and biomechanical properties assessed by CT. **Osteoporos Int** 25: 1163-1172, 2014
 - 8) Sone T, Ito M, Fukunaga M, Tomomitsu T, Sugimoto T, Shiraki M, Yoshimura T, Nakamura T: The effects of Once-weekly teriparatide on hip geometry assessed by hip structural analysis in postmenopausal osteoporotic women with high fracture risk. **Bone** 64: 75-81, 2014
 - 9) Okazaki N, Chiba K, Taguchi K, Nango N, Kubota S, Ito M, Osaki M: Trabecular microfractures in the femoral head with osteoporosis: Analysis of microcallus formations by synchrotron radiation micro CT. **Bone** 64: 82-87, 2014
 - 10) Nakamura T, Matsumoto T, Sugimoto T, Hosoi T, Miki T, Gorai I, Yoshikawa H, Tanaka Y, Tanaka S, Sone T, Nakano T, Ito M, Matsui S, Yoneda T, Takami H, Watanabe K, Osakabe T, Shiraki M, Fukunaga M: Clinical Trials Express: Fracture Risk Reduction With Denosumab in Japanese Postmenopausal Women and Men With Osteoporosis: Denosumab Fracture Intervention Randomized Placebo Controlled Trial (DIRECT). **J Clin Endocrinol Metab** 99: 2599-2607, 2014

2. 学会発表

平成28年度

- 1) Takeshita S, Fumoto T, Ito M, Ikeda K. Serum CTX levels and histomorphometric analysis in Src versus RANKL knockout mice. The 38th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 9月19日 Atlanta, Georgia
- 2) Ito M, Nakamura T, Hagino H, Hashimoto J, Asao Y, Yamamoto M, Endo K, Katsumata K, Matsumoto R, Nakano T, Mizunuma H: Monthly oral Ibandronate 100mg is as effective as monthly intravenous Ibandronate 1mg in patient subgroups of the MOVEST study. The 38th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 9月18日 Atlanta, Georgia
- 3) 伊東 昌子: 大腿骨近位部のジオメトリーによる骨脆弱性評価 第36回日本骨形態計測学会 (シンポジウム)、6月23日-6月25日、新潟
- 4) 千葉 恒、Sharmila Majumdar、伊東 昌子、尾崎 誠: HR-pQCTを用いた骨微細構造の評価。第36回日本骨形態計測学会 (イブニングセミナー)、6月23日-6月

25日、新潟

- 5) 伊東 昌子: 日本骨代謝学会における男女共同参画についての調査報告。第34回日本骨代謝学会学術集会/第3回アジア太平洋骨代謝学会議(女性研究者セッション)、7月20日、大阪
- 6) 伊東 昌子: 骨粗鬆症骨折抑制を目指して ～骨脆弱性の病態と治療効果を考える～。京都臨床整形外科医会講演会、5月21日、京都
- 7) 伊東 昌子: 骨粗鬆症骨折抑制を目指して一骨脆弱性の病態と治療効果を考える一。骨粗鬆症学術講演会2016、7月28日、新潟
- 8) 伊東昌子、中村利孝、萩野 浩、橋本純子、浅尾佳寛、山本雅雄、勝俣京子、松本留美子、遠藤弘一: イバンドロネート月1回経口剤は、患者セグメントに関わらず月1回静注剤と同様の効果を発揮する: MOVEST 試験サブグループ解析 第18回日本骨粗鬆症学会、10月6日、仙台
- 9) 伊東昌子: 画像からみた皮質骨構造と脆弱性の解析。第31回日本整形外科学会基礎学術集会(ランチョンセミナー)、10月14日、福岡
- 10) 伊東昌子: 骨粗鬆症骨折抑制を目指して～骨脆弱性の病態と治療効果を考える～第5回埼玉東部骨折治療懇話会、10月18日、埼玉
- 11) 伊東昌子: 骨粗鬆症骨折抑制を目指して～骨脆弱性の病態と治療効果を考える～印旛市郡BONEフォーラム、12月13日、千葉
- 12) 伊東昌子: 骨粗鬆症骨折抑制を目指して～骨脆弱性の病態と治療効果を考える～豊島区整形外科医会早春研修会、1月20日、東京
- 13) 伊東昌子: 骨脆弱性の病態と治療戦略を考える～原発性骨粗鬆症とステロイド骨症～ 第4回東京GIO研究会、1月23日、東京

平成27年度

- 1) Takeshita S, Rahman MM, Ikeda K: Proliferation-coupled osteoclast differentiation by RANKL. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 10月12日 Seattle, Washington
- 2) Ikeda K: Osteoclast metabolism. The 37th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 10月9日 Seattle, Washington
- 3) 竹下 淳: 破骨細胞が産生するカップリング因子 第33回日本骨代謝学会“骨代謝カップリング機構の新展開”、7月25日、東京
- 4) Ito M: Imaging analysis of the effects of Denosumab on bone structural properties. 第13回国際骨形態計測学会(ランチョンセミナー)、4月27日、東京
- 5) Ito M: Assessment of bone structure in relation to biomechanical properties. 第13回国際骨形態計測学会(特別講演)、4月27日、東京
- 6) Ito M: Advanced CT imaging for analysis of bone structural property. 10月16日 Paris
- 7) 伊東 昌子: 骨粗鬆症研究において、なぜ皮質骨微細構造が注目されているのか? 第88回日本内分泌学会学術総会(イブニングセミナー)、4月23日、東京

平成26年度

- 1) 池田 恭治: How osteoclasts talk to osteoblasts. Second Asia-Pacific Bone and Mineral Research Meeting、5月31日、Soel, Korea
- 2) Takeshita S: Osteoclast-secreted Coupling Factors. 第11回 Bone Biology Forum、8月23日、三島
- 3) Matsuoka K, Ikeda K, Takeshita S: Osteoclast-derived coupling factor Cthrc1

- stimulates osteoblast differentiation through Rac1/PKC α /ERK. The 36th Annual Meeting of the American Society for Bone & Mineral Research. 9月15日 Houston, Texas, USA
- 4) 池田 恭治 : PTHrP to bone cell biology. AEB Metabolism Symposium、4月4日 Yale University, USA
 - 5) 池田 恭治 : What it takes to be an osteoclast. Daegu Univ Seminar、5月29日、Daegu, Korea
 - 6) Nakamura Y, Kuroda T, Sugimoto T, Shiraki M, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T, Nakamura T: Once-weekly teriparatide reduces vertebral fracture risk-Subgroup analysis from the teriparatide once weekly efficacy research (TOWER) trial. WCO-IOF-ESCEO 2014,2014.4.2, Seville
 - 7) Nakano T, Nakamura T, Ito M, Hagino H, Hashimoto J, Tobinai M, Mizunuma H: Higher response with bone mineral density (BMD) increase and bone turnover reduction following treatment with monthly injectable ibandronate (IBN) for patients (pts) with osteoporosis in the MOVER study. WCO-IOF-ESCEO 2014,2014.4.2, Seville
 - 8) Sakai A, Ito M, Tomomitsu T, Tsurukami H, Ikeda S, Fukuda F, Mizunuma H, Inoue T, Saito H, Nakamura T, e-ADVANCED Study Group: Eldecacitol, a second generation active vitamin D analog, increases lumbar spine BMD in osteoporotic patients treated with alendronate regardless of their pretreatment levels of bone turnover. The American Society for Bone and Mineral Research 2014 Annual Meeting, 2014.9.13, Houston
 - 9) Hagino H, Nakamura T, Ito M, Nakano T, Hashimoto J, obinai M, Mizunuma H: The effect of monthly i.v. Ibandronate injections on Japanese patients with high-risk primary osteoporosis: Subgroup analysis of the phase III MOVER study. The American Society for Bone and Mineral Research 2014 Annual Meeting, 2014.9.13, Houston
 - 1 0) Ito M: Microstructure analysis of bone strength. IOF Regionals 5th Asia-Pacific Osteoporosis Meeting, 2014.11.14, Chinese Taipei
 - 1 1) Hagino H, Nakamura T, Ito M, Nakano T, Hashimoto J, Tobinai M, Mizunuma H: The effect of monthly i.v. ibandronate injections on Japanese patients with high-risk primary osteoporosis: subgroup analysis of the phase III Mover study. IOF Regionals 5th Asia-Pacific Osteoporosis Meeting, 2014.11.14, Chinese Taipei
 - 1 2) Ito M, Nakamura T, Nakano T, Hagino H, Hashimoto J, Shinomiya K, Asao Y, Inoue T, Mizunuma H: The clinical efficacy of monthly oral ibandronate 100 mg in Japanese patients with primary osteoporosis: the phase III MOVEST study. WCO-IOF-ESCEO 2015, 2015.3.27, Milan
 - 1 3) 伊東 昌子 : 新たな骨粗鬆症治療戦略ー活性型ビタミンD製剤とビスホスホネート製剤が果たす役割ー。第87回日本整形外科学会学術総会(ランチョンセミナー)、5月22日、神戸
 - 1 4) 伊東 昌子 : 骨密度・骨質からみた各種骨粗鬆症治療薬の効果 海綿骨・皮質骨構造 第34回日本骨形態計測学会(シンポジウム)、6月13日、札幌
 - 1 5) 伊東 昌子 : ビスフォスフォネート製剤による皮質骨多孔化の抑制効果 第32回日本骨代謝学会(イブニングセミナー)、7月24日、大阪

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし