関節組織における 転写因子カスケードの役割と創薬応用

宝田 剛志

要約：多様な細胞の集団である組織においては、細胞同士が協調して機能するシステムを構築するために、細胞間連絡を媒体する情報伝達物質とそのシグナル伝達経路は、非常に重要な機能的役割を果たすと考えられる。それゆえ、細胞に対して特異的・重点的に作用する物質やシグナル経路を新たに同定することは、単に各細胞機能の制御機構の解明に止まらず、疾患の予防または病態に対する理解を深める上で重要な手がかりになると思われる。一方、関節組織の代表的疾患である、慢性関節リウマチや変形性関節症の国内での患者数はそれぞれ100万人および1000万人を超えると推定されており、これら疾患の克服は超高齢化社会を迎えた我が国において社会的要求度と緊急性が極めて高い課題である。近年我々は、関節組織の構成と維持を担う軟骨細胞とともに、その起源細胞である間葉系幹細胞において、細胞外シグナルの包括的な統合に伴って、転写因子群による機能制御機構（転写因子カスケード）が活性化されるとの仮説を新たに提唱した。これら一連の研究成果の進展により、各種転写カスケードを標的として、関節疾患に対する新規治療戦略の創薬展開が可能となると推察される。本稿では、著者らが同定した各種転写因子カスケードについて概説するとともに、その生理機能を「個体レベル」で解析する目的で、独自に作出したコンディショナル遺伝子欠損マウスについても併せて紹介したい。

1. 骨関節組織

四肢の骨組織での骨量維持が、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収からなる骨リモデリング (bone remodeling) により行われているのに対して、2種類の骨の連結部である関節組織を構成する軟骨組織は、コラーゲンやプロテオグリカンのような軟骨基質

を産生・分泌する軟骨細胞の正常な働きにより維持されている。軟骨細胞は、間葉系幹細胞を起源とし、関節の維持だけではなく、胎生期における内軟骨性骨化様式による骨格形成時において重要な役割を果たす。すなわち、哺乳類の骨組織は2つの異なる骨格形成過程により構築される。一つは未分化な間葉系幹細胞が、軟骨細胞への分化を経由することなく、直接骨芽細胞に分化して骨が形成される膜性骨化形式であり、これは主に頭蓋骨や下顎骨の一部、あるいは鎖骨で認められる。もう一方は、軟骨組織を一度経由する内軟骨性骨化形式であり、上腕骨や脛骨、大腿骨のような四肢の長管骨において認められる。

内軟骨性骨化では、まず間葉系組織のなかに軟骨原基が形成され、軟骨細胞がCollagen IIを初めとする特異な細胞外マトリックスを放出しながら増殖して、骨原基が伸長、拡大するとともに軟骨組織が形成される。その後、軟骨細胞自身は肥大化軟骨細胞、石灰化軟骨細胞へと分化したのち、アポトーシスにより死滅する。次いで、初めて血管が軟骨基質を溶解する破骨細胞とともに侵入し、骨髓腔を形成して造血が始まるとともに、軟骨周囲の未分化間葉系幹細胞が骨芽細胞に分化しつつ骨髓腔に侵入したのち骨を形成する。同様に骨端部位においても軟骨が骨に置き変わる(1)。この内軟骨性骨化過程は、胎生期における骨格形成段階だけではなく、成長期における成長板軟骨においても認められる。成長板では、様々な分化段階の軟骨細胞が存在し、この分化過程は増殖性軟骨細胞、前肥大化軟骨細胞および肥大化軟骨細胞へと規則的に進行し、この過程が進行することにより、骨格の長軸方向への伸長が促進されると理解される。成長板閉鎖以降においても、機械的刺激により誘発される骨折の治癒過程、つまり骨再生時においては、骨破壊部位に間葉系幹細胞

キーワード：転写因子、軟骨細胞、間葉系幹細胞、Runx2

金沢大学 医薬保健研究域薬学系 (〒920-1192 石川県金沢市角間町)

E-mail: takarada@p.kanazawa-u.ac.jp 原稿受領日：2014年6月3日、第29回日本薬理学会学術奨励賞受賞講演総説

Title: Analysis of the signaling cascade of transcription factors in joint tissue with the aim of drug discovery

Author: Takeshi Takarada

が凝集することにより始まる内軟骨性骨化が認められる(2)。また変形性関節症は、機械的ストレスの蓄積により関節軟骨の変形・破壊、それに引き続く疼痛を主訴とする代表的な膝関節疾患の一つであるが、同疾患では永久軟骨であるはずの関節軟骨において内軟骨性骨化が誘発され、軟骨細胞の肥大化とアポトーシスが誘発される可能性が推察されている(3, 4)。

内軟骨性骨化の進行過程においては、bone morphogenetic protein (BMP), fibroblast growth factor (FGF) および insulin growth factor (IGF) 等の成長因子や、Indian hedgehog, parathyroid hormone related peptide (PTHrP) および Wnt 等の分泌型タンパク質など、数多くの因子が骨化過程を制御することが明らかとなっている(1)。これらの因子による細胞の機能変化、つまり細胞の分化・成熟の進行過程では、細胞自身の性質・形質の大幅な変化がもたらされて、細胞内タンパク質の劇的変化が要求される。これを可能とする細胞の持つ仕組みの一つが、細胞膜上の受容体等を介する細胞外シグナルの情報を、特定タンパク質の発現制御を担う転写因子へ統合する「転写因子カスケード」である。転写因子は、ゲノム DNA 上の特異的な配列 (cis-element) に結合し、下流にコードされている遺伝子の転写を制御するタンパク質の一群である。内軟骨性骨化の進行過程では、間葉系幹細胞は前軟骨細胞へと分化したのち、さらに増殖、前肥大化および肥大化軟骨細胞へと順次分化する。この軟骨細胞分化過程の初期には Collagen II が、および後期には Collagen X がそれぞれ産生されることから、これらコラーゲンの発現は軟骨細胞分化の指標として用いられている。この分化過程において、Sox5, Sox6 および Sox9 は何れも軟骨細胞の分化過程初期に、および Runx2 は肥大化軟骨細胞の分化過程

後期にそれぞれ必須の転写因子である(5-7) (図 1)。

上述の通り、内軟骨性骨化の一連の分化・成熟過程には、成長因子、分泌型タンパク質の作用や、Sox や Runx2 等の転写因子による分化決定および成熟化調節機構、その他多くの因子の影響が欠かせない。著者らは、グルタミン酸受容体の一種である NMDA 受容体が、軟骨細胞に機能的に発現することを見出し、同受容体活性化に続く細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇により Runx2 転写活性が促進され、その結果軟骨細胞の成熟化が促進される事実を見出した(8, 9)。また、軟骨細胞に発現する β_2 アドレナリン受容体の活性化により、cAMP/PKA を介する Sox6 発現抑制が招来され、軟骨細胞の成熟化が抑制されることを見出した(10)。さらに著者らは、軟骨の成長に 24 時間周期のリズムが存在することに注目して、概日リズムの分子実体である時計遺伝子が軟骨細胞の機能制御を担うこと、および時計機能が副甲状腺ホルモンにより調節を受けることを発見した(11, 12)。これらの研究成果のうち、軟骨細胞での NMDA 受容体を介する Runx2 機能制御についての解析結果を以下に概説する。

2. 軟骨細胞に発現する NMDA 受容体

グルタミン酸 (L-glutamate : Glu) は中枢神経系において興奮性神経伝達物質として働くアミノ酸であり、細胞膜上の Glu レセプター (GluR) を介して神経細胞内に興奮性情報を伝達することが知られている。Glu が特定細胞における情報伝達物質として機能するためには、各種 Glu シグナル伝達装置の機能的発現が必須条件である。すなわち、シグナル入力系としての GluR、シグナル出力系としての vesicular glutamate transporter (VGLUT)、およびシグナル終止系としての glutamate トランスポーター (GluT) である

図 1 軟骨細胞分化・成熟過程

excitatory amino acid transporter (EAAT) である(13). EAAT 以外にも GluT としては cystine/Glu antiporter が同定されているが, 同アンチポーター分子は細胞外 cystine を細胞内 Glu と交換輸送することにより, 細胞内 glutathione (GSH) 合成に必須の役割を果たすことが知られている(14). 著者らは, 神経性アミノ酸である Glu が, 骨形成を担う骨芽細胞において NMDA 受容体を介する細胞分化調節機能を発揮する可能性を報告している(15). 軟骨組織においては特定の Glu シグナル装置の mRNA 発現だけでなく, 機能的な metabotropic GluR の発現(16), GluR 応答性の Glu 放出機構(17), EAAT による Glu 取り込み機構(18), および機能的な cystine/Glu antiporter の発現(19) 等が見出される. NMDA 受容体に関しては, 骨芽細胞の場合と同様に軟骨細胞においても NMDA 受容体の mRNA 発現が確認されているが(16), その軟骨細胞における機能的役割は全く解析が行われていない状況であった. そこで著者らは, NMDA 受容体の軟骨組織における発現分布を解析するとともに, 肋軟骨由来初代培養軟骨細胞を用いて NMDA 受容体の生理学的重要性について検討を行った.

最初に, 軟骨組織における各種 NMDA 受容体サブユニットの発現を検討したところ, 初代培養軟骨細胞において GluN1, GluN2D および GluN3A 各サブユニットの mRNA 発現が認められたが, いずれもその発現は肥大化軟骨細胞層に局限することが明らかとなった. この培養軟骨細胞では, NMDA 受容体アゴニストの一つである glycine (Gly) が, 後期分化過程の指標である細胞石灰化を有意に促進したが, この促進効果は Gly 部位のアンタゴニストである 5,7-dichlorokynurenic acid (DCKA) により有意に拮抗された. しかしながら, 抑制性 Gly 受容体アンタゴニストである strychnine や Gly トランスポーター阻害薬である sarcosine は, この Gly の促進作用に対して著明な変化を与えなかった. 通常のヘテロマー型 NMDA 受容体チャネル複合体は, GluN1 と GluN2A-D サブユニットから構成される 4 量体であるが, その活性化には Glu と Gly の 2 種のアゴニストを要する. 同チャネルは Na^+ よりも Ca^{2+} に対して高い透過性を持ち, Mg^{2+} による電位依存的阻害を受ける. 一方, ツメガエル卵母細胞に GluN1 と GluN3A サブユニットを人工的に共発現させると, Ca^{2+} 透過性の低い陽イオンチャネルが形成されるが, このチャネルは Glu や NMDA には影響されないで Gly により開口するとともに, NMDA 受容体の co-agonist として知られる D-serine により阻害される事実が報告されている(20). 我々の研究結果では, 軟骨組織および肋軟骨由来軟骨細胞に

は, GluN1, GluN2D および GluN3A 各サブユニットの発現が認められたが, 培養軟骨細胞に Gly を曝露すると軟骨細胞石灰化が促進され, その効果は NMDA 受容体上の Gly 結合部位アンタゴニストである DCKA および D-serine により拮抗されたため, この Gly の軟骨細胞石灰化に対する促進効果は, GluN1 と GluN3A サブユニットからなる興奮性 Gly 受容体を介する変化であるとの結論を得た(9).

上記の成熟促進作用の細胞内メカニズムを検討する目的で, 後期分化過程を制御する転写因子 Runx2 に注目した. Runx2 は骨芽細胞の分化に必須の転写因子であり, Runx2 欠損マウスは完全に骨芽細胞を欠失して骨形成が全く起こらない(5,6). 一方, 軟骨細胞に特異的な Collagen II のプロモーターを用いた Runx2 トランスジェニックマウスでは, 軟骨細胞は早期から肥大化すること, またドミナントネガティブ型 Runx2 のトランスジェニックマウスでは, 軟骨細胞の成熟と軟骨内骨化が抑制されるので, Runx2 は軟骨細胞の成熟にも必要な転写因子であることが明らかとなっている(21). Runx2 は肥大化軟骨細胞層に局限して発現するだけでなく, 石灰化軟骨細胞マーカーである osteopontin (OPN) の発現を直接的に制御することから, Runx2 は軟骨細胞分化の後期過程に重要な役割を果たす可能性が推察されている(22). Gly が軟骨細胞の石灰化を促進した点と, OPN 発現を有意に上昇させた点を考慮して, Runx2 の発現あるいは転写活性化能に与える影響を, Runx2 結合配列を使用した Luciferase assay 法により解析したところ, Gly は Runx2 の発現自体には著明な影響を与えないのに対して, Runx2 の転写活性化能を有意に促進した. したがって, GluN1 と GluN3A サブユニットから構成される NMDA 受容体の活性化は, 細胞内 Ca^{2+} 流入を通じて, その後 Runx2 の転写活性化能を亢進させた結果, 軟骨細胞の後期分化過程に対して促進的な影響が出現する可能性が考えられる(9). 軟骨細胞分化は, 生体の発生および成長過程に重要な役割を果たすので, この一連の分化過程に対する影響は特定関節疾患の病態生理にも深く関与する. そのため, 低分子物質による同過程制御は, 各種関節疾患に対する薬物治療の対象として考えられるため, 今回見出した関節組織における転写因子カスケードは, 将来的に新規創薬戦略の展開と発展への応用が期待される.

3. 間葉系幹細胞

血管の浸潤が観察されない軟骨の再生能は極めて乏しいため, 関節疾患時における軟骨破壊を根本的に治療するために, 軟骨細胞への分化能を有する間葉系幹

細胞を用いた軟骨再生医療が近年注目されている。間葉系幹細胞は、種々の間葉系組織の修復と維持に関わると考えられており、骨髄以外にも真皮、骨格筋、脂肪など様々な組織にも存在している(23)。特に、ヒト骨髄由来の間葉系幹細胞が単離、培養可能であるため、同幹細胞が適切な培養条件下では骨芽細胞、脂肪細胞、および軟骨細胞へと分化することが確認されている(24)。

骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、および筋芽細胞は、共通の未分化間葉系幹細胞から分化することが従来予想されていたが、この分化過程メカニズムが遺伝子レベルで明らかにされたのは筋芽細胞が最初である。1987年にMyoDが発見されて、MyoD, myogenin, Myf-5等のbasic helix-loop-helix (bHLH)型の転写因子が、未分化間葉系幹細胞から筋管までの分化を支配することが示された(25)。1994年になると、脂肪細胞への分化を支配する転写因子として核内受容体の一つperoxisome proliferator-activated receptor γ 2 (PPAR γ 2)が同定され(26)、その後1997年にはショウジョウバエの体節形成遺伝子の一つruntにホモロジーを持つRunx2が、骨芽細胞への分化を支配する遺伝子の一つとして登場した(5,6)。さらに1999年には、軟骨細胞への分化にhigh mobility group (HMG)の転写因子Sox9が必須であることが示された(7)。このように、未分化幹葉系幹細胞から各種骨格系形成細胞への分化は、異なるファミリーに属する転写因子によって支配されている(図2)。

また、近年の再生医療をターゲットとする幹細胞研究は、induced pluripotent stem cell (iPS)細胞を中心として活発に実施されているが、その他方で幹細胞利

用の倫理性や安全性に関する社会的論争も絶えない。様々な幹細胞群の中でも、間葉系幹細胞は骨髄から採取可能なので提供者臓器を傷つけることもなく、また患者本人からの採取も可能な点で免疫拒絶の問題を回避できる。間葉系幹細胞は、上述の間葉系細胞以外に胚葉をこえて、心筋細胞や肝細胞、あるいは神経細胞にも分化するとの報告(27,28)も見られるので、その汎用性や実用性あるいは応用性は高いと推察される。ただ、均一な幹細胞の供給、あるいは目的細胞への選択的な分化誘導、等、実際の臨床応用には種々の障壁が存在する。さらに、幹細胞に対する毒性が低くて、増殖能や分化能に選択的影響を与える栄養因子の探索など、種々の問題点を解決して安全性の高い細胞集団を提供するためには、これら細胞の細胞内伝達機構の解明が、再生医療の実用化に向けて重要な課題である。

著者らは、間葉系幹細胞ではGluTの一種であるcystine/Glu antiporterが、Runx2の核内移行の促進を通じて、同幹細胞の増殖能(29)や分化能(30)を制御する事実を発見した。さらに、間葉系幹細胞に発現する β_2 アドレナリン受容体が、cystine/Glu antiporterのxCTサブユニットの発現制御を介して、同幹細胞の機能調節を行う事実を見出した(31)。これらの研究成果は、関節軟骨の再生医療を指向する上で、間葉系幹細胞を標的とする創薬応用に新しい方向性を示すと言える。以下に、間葉系幹細胞でのcystine/Glu antiporterによるRunx2機能制御について概説する。

4. 間葉系幹細胞に発現するcystine/Glu antiporter

近年、脳内情報伝達物質として知られるGluの末梢

図2 間葉系幹細胞の分化過程

組織におけるシグナル伝達研究が進み、間葉系幹細胞に由来する骨芽細胞や軟骨細胞に、Glu レセプターや同トランスポーターの機能的発現が確認され、Glu がこれら細胞の機能や分化プロセスにおいて、細胞外情報伝達物質として働く可能性が示唆されている(32)．著者らは、前駆細胞である間葉系幹細胞の機能に対する Glu シグナル伝達機構関与の可能性に着目して研究を遂行するに至った．

間葉系幹細胞のモデル細胞として、C3H10T1/2 細胞とマウス骨髄由来間葉系幹細胞を使用して解析を行った．Glu シグナル分子の発現解析を行うと、C3H10T1/2 細胞には、GluR では NMDA 受容体、DL- α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) 受容体および kainic acid (KA) 受容体だが、GluT では cystine/Glu antiporter を構成する xCT と 4F2hc 両サブユニットの mRNA 発現がそれぞれ確認された．分化能に対する Glu の効果を解析したところ、C3H10T1/2 細胞とマウス骨髄間質細胞の両方において、Glu 曝露は骨芽細胞分化マーカーである alkaline phosphatase (ALP) 染色性を有意に低下させたのに対して、脂肪細胞分化マーカーの Oil Red O 染色性に著変を与えなかった．骨芽細胞分化条件下で観察される骨芽細胞マーカーの mRNA 発現は、Glu 曝露により有意に減少することが判明した．また、各種受容体アゴニストは ALP 染色性に著変を与えなかったが、cystine 曝露は Glu による ALP 染色性と骨芽細胞マーカーの減少をともに有意に回復した．Cystine の輸送活性を測定したところ、細胞内への cystine 輸送活性は、Glu や cystine/Glu antiporter 阻害薬によって著明に抑制された．

Cystine/Glu antiporter は、xCT サブユニットと 4F2hc サブユニットから構成される複合体を形成する

が、Cl⁻ 依存性、Na⁺ 非依存性に細胞内 Glu を放出して細胞外 cystine を細胞内に取り込む．しかしながら、高濃度 Glu が細胞外に存在する場合は、その機能は失われ細胞内 cystine 量の減少によって、GSH の基質である cysteine (Cys) 合成が抑制される．GSH は細胞内の重要な抗酸化物質であるが、Glu、Gly、および Cys から構成されるトリペプチドで、その生成律速因子は最も細胞内存在量の少ない Cys である．実際に、Glu 曝露は細胞内 GSH 量を著明に減少させたが、さらに C3H10T1/2 細胞の ALP 染色性は GSH やその前駆体により上昇するが、GSH 枯渇薬や GSH 合成抑制薬により減少することが判明した．また、C3H10T1/2 細胞に xCT サブユニットに対する siRNA を導入し、内在性の xCT サブユニットの発現を減少させたところ、Glu 曝露による骨芽細胞分化の抑制は消失した．

次いで、この Glu による骨芽細胞分化抑制メカニズムを検討するために、転写因子 Runx2 に注目して解析を行った．Runx2 は、間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化過程に必須の転写因子（マスターレギュレーター）として知られている．例えば、Runx2 全身性欠損マウスでは骨が全く形成されない．Runx2 標的遺伝子である osteocalcin のプロモーター領域を用いて、Runx2 の DNA 結合性を chromatin immunoprecipitation (ChIP) assay により検討したところ、C3H10T1/2 細胞への Glu 曝露により Runx2 の cis-element への結合能減少だけでなく、さらに Runx2 の核内移行性の減少が観察された．したがって、間葉系幹細胞のモデル細胞である C3H10T1/2 細胞では、Glu シグナル分子の一つである cystine/Glu antiporter が Runx2 の核内移行性を制御することで、同幹細胞の増殖能(29)と骨芽細胞分化能(30)を抑制するものと推察される(図3)．

図3 間葉系幹細胞での glutamate による Runx2 を介した機能制御

現在, iPS 細胞等幹細胞の「再生医療」や「ヒト疾患モデル/薬物スクリーニング」への応用が期待され, オールジャパン研究体制が構築されている中で, 間葉系幹細胞を関節疾患治療あるいは再生治療の創薬標的とする研究内容は極めて重要である。間葉系幹細胞機能の多くは未解明であるが, 関節疾患に対する治療応用研究のほとんどが, 軟骨細胞を標的として捉えているのに対して, 従来の視点とは異なる未分化幹細胞に注目して, 再生医療の観点からアプローチする研究は, 有効な治療薬や予防薬の開発が難航する現状に新規な創薬戦略の展開をもたらすと推察される。本研究の発展が, 幹細胞研究の第3の展開である『創薬ターゲット』研究の推進に寄与することを期待したい。

5. 個体レベルでの解析

これらの研究成果を, 関節系疾患をとりまく病態に対する治療研究に発展させるには, 細胞外シグナルを細胞内で統合する転写因子カスケードの生理機能, およびその破綻に伴う生理機能変化を「個体レベル」で詳細に解明することが重要である。著者らが注目する転写因子の一つである Runx2 は, 骨格形成に必須の転写因子であるが, 全身性欠損マウスが生後直ちに死亡することから, 骨関節系疾患の病態発症メカニズムにおける Runx2 関与の遺伝的解析は実現不可能であった。この実験的欠陥を解決するために, 特定の細胞や発達時期に特定遺伝子を欠損させることが可能な Cre/loxP システムを利用して, 数年前に Runx2 コンディショナル欠損マウスの作製に着手した。その結果, 軟骨細胞における Runx2 の機能的役割を, 今回世界で初めて個体レベルで解析することに成功した(33)。その詳細について以下に述べる。

Runx2 遺伝子の Runt domain を有する Exon 4 の両端に loxP 配列を導入した targeting vector を作製し, それを ES 細胞である TT2 細胞に遺伝子導入した。組み換えをおこした ES 細胞クローンを Southern blotting により選別し, 選別した ES 細胞を胚盤胞に注入してキメラマウスを得た。得られたキメラマウスは, C57BL6/J マウスと交配し, 変異型遺伝子が Germline transmission したことを確認後, Flippase トランスジェニックマウスと交配することにより, 薬剤耐性遺伝子である Neo 配列を除いたマウス (*Runx2^{lox/+}*) マウスを得た。

作製した *Runx2^{lox/+}* マウスと, 各種細胞特異的 Cre recombinase 発現マウス (骨芽細胞特異的 Cre マウス: *Collagen(I)-Cre* マウス, 軟骨細胞特異的 Cre マウス: *Collagen(II)-Cre* マウス) を交配して, 骨芽細胞特異的 Runx2 欠損マウスである *Collagen(I)-*

Cre;Runx2^{lox/flox} マウスや, 軟骨細胞特異的 Runx2 欠損マウスである *Collagen(II)-Cre;Runx2^{lox/flox}* マウスを作製した。その結果, *Collagen(I)-Cre;Runx2^{lox/flox}* マウスでは著明な骨格表現系は認められなかったが, *Collagen(II)-Cre;Runx2^{lox/flox}* マウスにおいては, 内軟骨性骨化過程の障害が確認された(33)。このような Runx2 コンディショナル欠損マウスの作出により, 当該マウスの胎児から成体までの発達過程の解析が可能となり, Runx2 の新たな生理学および病態生理学的意義の解明研究が急速に進展すると予想される。将来的には, Runx2 コンディショナル欠損マウスの包括的応用に伴って, 骨関節疾患だけに止まらず, 広く各種臓器における機能異常発症メカニズム解明研究とともに, その創薬分野への応用研究が可能となると期待される。

6. おわりに

超高齢化社会への突入に伴い, 変形性関節症や慢性関節リウマチ等の関節疾患の国内患者数は増加の一途を辿っている。この状況に反して, 罹患患者における薬物治療満足度は非常に低く, 生活の質を向上させる画期的な治療薬の開発が切望されている。さらに, 軟骨細胞の機能異常に起因する軟骨無形成症や小人症等の遺伝性疾患に至っては, 治療薬は皆無の状況である。今後, 上述の独自の新規創薬標的分子に関するトランスレーショナル研究を実施することで, 骨関節疾患の効果的治療法確立と治療薬開発を指向する新規治療戦略の展開を推進させたい。

謝辞: 本研究を遂行する上において終始ご懇切なるご指導とご鞭撻を賜りました, 金沢大学医薬保健研究域薬学系・米田幸雄教授に厚く御礼申し上げます。また, 本研究の遂行にあたり, 御指導と御鞭撻を賜りました大阪府立大学大学院環境生命科学研究科・中村洋一教授, 立命館大学薬学部・谷浦秀夫教授, 京都産業大学総合生命科学研究科生命システム学科・中村暢宏教授, 金沢大学医薬保健研究域薬学系・檜井栄一准教授並びに金沢大学医薬保健研究域薬学系・中道範隆准教授に厚くお礼申し上げます。さらに, 多大なるご協力とご援助を頂きました金沢大学医薬保健研究域薬学系・薬物学研究室の皆様にも深く感謝いたします。最後に, 日本薬理学会学術奨励賞選考委員並びに関係者の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Kronenberg HM. Nature. 2003;423:332-336.
- 2) Ferguson C, et al. Mech Dev. 1999;87:57-66.
- 3) Kawaguchi H, et al. Mol Cells. 2008;25:1-6.
- 4) Saito T, et al. Nat Med. 2010;16:678-686.
- 5) Otto F, et al. Cell. 1997;89:765-771.
- 6) Komori T, et al. Cell. 1997;89:755-64.

- 7) Bi W, et al. *Nat Genet.* 1999;22:85-89.
- 8) Takahata Y, et al. *Cell Tissue Res.* 2008;333:91-103.
- 9) Takarada T, et al. *J Cell Physiol.* 2009;220:756-764.
- 10) Takarada T, et al. *Bone.* 2009;45:568-578.
- 11) Hinoi E, et al. *J Biol Chem.* 2006;281:23632-23642.
- 12) Takarada T, et al. *J Biol Chem.* 2012;287:36081-36095.
- 13) Hollmann M, et al. *Ann Rev Neurosci.* 1994;17:31-108.
- 14) Sato H, et al. *J Biol Chem.* 1999;274:11455-11458.
- 15) Hinoi E, et al. *FASEB J.* 2003;17:1532-1534.
- 16) Wang L, et al. *Br J Pharmacol.* 2005;146:732-743.
- 17) Wang L, et al. *Biol Pharm Bull.* 2005;28:990-993.
- 18) Hinoi E, et al. *Biochem Pharmacol.* 2005;70:70-81.
- 19) Wang L, et al. *J Biol Chem.* 2006;281:24553-24565.
- 20) Chatterton JE, et al. *Nature.* 2002;415:793-798.
- 21) Ueta C, et al. *J Cell Biol.* 2001;153:87-100.
- 22) Sato M, et al. *Oncogene.* 1998;17:1517-1525.
- 23) Zuk PA, et al. *Tissue Eng.* 2001;7:211-228.
- 24) Pittenger MF, et al. *Science.* 1999;284:143-147.
- 25) Davis RL, et al. *Cell.* 1987;51:987-1000.
- 26) Tontonoz P, et al. *Cell.* 1994;79:1147-1156.
- 27) Reyes M, et al. *Blood.* 2001;98:2615-2625.
- 28) Young HE, et al. *Anat Rec.* 2001;264:51-62.
- 29) Iemata M, et al. *J Cell Physiol.* 2007;213:721-729.
- 30) Takarada-Iemata M, et al. *J Cell Physiol.* 2011;226:652-665.
- 31) Takahata Y, et al. *J Cell Physiol.* 2009;218:268-275.
- 32) Takarada T, et al. *J Pharmacol Sci.* 2008;106:536-541.
- 33) Takarada T, et al. *J Bone Miner Res.* 2013;28:2064-2069.