



Title	軟骨内骨化における骨特異的血管とseptoclastの組織学的知見
Author(s)	土屋, 恵李佳; 長谷川, 智香; 北川, 善政 他
Citation	北海道歯学雑誌, 38(1), 59-60
Issue Date	2017-09
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67309
Type	journal article
File Information	38_01_07_Tsuchiya.pdf



最新の歯学

軟骨内骨化における骨特異的血管とseptoclastの組織学的知見

Histological aspects on bone-specific blood vessels and septoclasts during endochondral ossification

北海道大学大学院歯学研究院 ¹⁾口腔健康科学分野 硬組織発生生物学教室²⁾口腔病態学分野 口腔診断内科学教室土屋恵李佳^{1, 2)} 長谷川智香¹⁾ 北川 善政²⁾ 網塚 憲生¹⁾

はじめに

骨形成の機序は、骨の発生・成長の場で生じるモデリングと古い骨を新しい骨に置き換えるリモデリング（骨改造）に大別される。成長期の長骨（長管骨）における軟骨内骨化では、血管の軟骨侵入により石灰化軟骨基質が露出し、そこに骨芽細胞が骨形成を行うといったモデリングが認められる。本稿では、軟骨内骨化のモデリングにより骨形成が誘導される領域、すなわち、骨幹端領域において、近年、注目を集めている骨特異性血管の存在や、septoclast（別名：perivascular cell）について紹介する。

1. 軟骨内骨化の組織的メカニズム

軟骨内骨化は、成長板軟骨の肥大化軟骨細胞が軟骨細胞のカラム間に基質小胞を分泌して石灰化軟骨基質を形成するが、カラム内の横隔壁に石灰化は誘導されず、そこに血管内皮細胞が侵入することで開始する。肥大化軟骨細胞は血管内皮増殖因子（VEGF）を発現することで、血管内皮細胞は血管新生を伴いながら軟骨基質に侵入する¹⁾。その結果、軟骨カラム間の石灰化軟骨基質は縦方向（骨の長軸方向）に露出・伸長し、その表面に前骨芽細胞が遊走・定着し骨芽細胞に分化後、新生骨を添加してゆくことで、軟骨コアとその周りの骨基質で構成される一次骨梁が形成されてゆく（図1）。

2. 骨特異的血管について

骨・軟骨移行部の血管に着目すると、血管内皮細胞が細胞突起を軟骨基質へと伸長する像が観察される。これらの血管内皮細胞の中には管腔の先端が開放型を示すものが認められる。また、これらの血管内皮細胞は基質分解酵素であるMMP-9陽性を示すことから、軟骨基質の分解を伴いながら血管新生を行い軟骨内侵入すると考えられる。

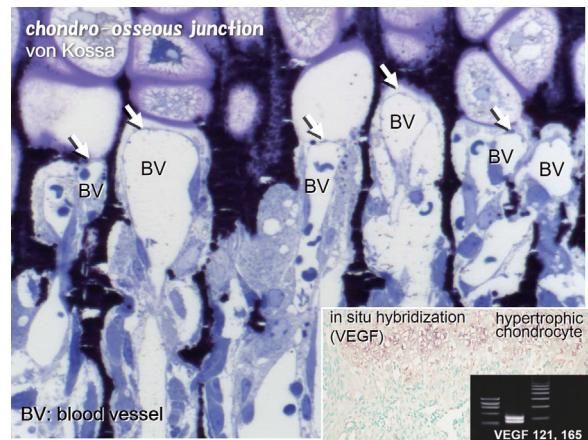


図1 骨・軟骨移行部（chondro-osseous junction）におけるvon Kossa染色。石灰化基質は黒く染色されている。また、骨組織からの血管（BV：白矢印）が軟骨カラム直下に並んで局在している。枠内は、VEGF in situ hybridizationおよびRT-PCRを示す。肥大化軟骨細胞にVEGFが発現している。

近年、骨に特異的な血管のサブタイプ（CD31^{high}/endomucin^{high}）の存在が注目を集めている²⁾。我々の実験では、骨幹端、特に、骨・軟骨移行部においてCD31^{high}/endomucin^{high}陽性血管を観察することができた³⁾。

その一方で、これらのCD31^{high}/endomucin^{high}陽性血管の多くが、同時にEphB4陽性を示すことから静脈性の血管内皮細胞であること、また、ephrinB2陽性を示す動脈性内皮細胞は、それほど数が多くないことが明らかとなった³⁾。ephrinB2は、血管内皮細胞よりも、むしろ、CD31^{high}/endomucin^{high}陽性血管の周囲に存在する骨芽細胞に認められた。また、透過型電子顕微鏡で観察すると、骨軟骨移行部では、血管内皮細胞と活性型骨芽細胞とが細胞膜を介して直接cell-to-cell contactを行う像が認められたことから、血管内皮細胞のEpgB4と骨芽細胞のephrinB2が相互的に作用を及ぼしている可能性が示唆された³⁾。つまり、軟骨内骨化において、骨軟骨移行部では血管内皮細胞がcell-to-cell contactを介することで骨芽細胞は活性化されている可能性が推察され

る。また、この領域では、HIF-1 α やnotchなどのシグナルが関与しているという報告もなされている⁴⁾。

興味深いことに、CD31^{high}/endomucin^{high}/EphB4陽性を示す血管が骨・軟骨移行部に接し、軟骨侵入を行う部位ではEphB4陽性を示さず、MMP-9など各種の基質分解酵素を有していた。つまり、1本の血管でも、骨・軟骨移行部とそれ以外の領域では、そこに発現する膜蛋白や機能が異なる可能性が異なることが強く示唆された。

3. 軟骨内骨化におけるseptoclast

骨・軟骨移行部では、軟骨への血管侵入により石灰化軟骨基質が露出し、そこに骨芽細胞が骨形成を行うといったモデリングが認められる。この際に、余剰な石灰化基質は破骨細胞が処理し、一方、細胞・基質残渣を血管周囲に存在するseptoclastが取り込むと考えられている⁵⁾ (図2)。Septoclastの細胞分化由来については詳細にはわからないが、我々の検索では、その分化過程においてRankシグナルが必要なこと、また、マクロファージ・単球/破骨細胞系ではないことを明らかにしている。

近年、前破骨細胞が分泌するPDGF-bbが骨特異性血管の血管新生を誘導し、さらに骨形成を亢進することが報告されている⁶⁾。我々が検索したところ、PDGF-bb陽性細胞は骨・軟骨移行部に局在するが、破骨細胞だけでなくseptoclastと思われる細胞にもPDGF-bb陽性反応が認められた。このことから、骨軟骨移行部に存在する破骨細胞やseptoclastのいくつかはPDGF-bbを産生し、軟骨侵入に必要な血管

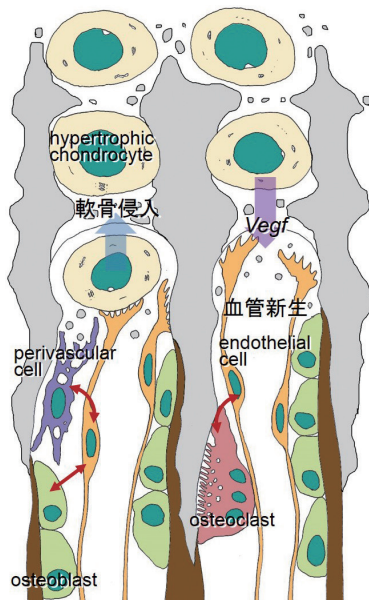


図2 骨・軟骨移行部におけるseptoclast (perivascular cell) を含めた細胞連携プレーの模式図。

新生を誘導・支持する可能性が推察された。つまり、軟骨への血管侵入は肥大化軟骨細胞からのVEGFだけでなく、破骨細胞やseptoclastからのPDGF-bbによって局所的に調節される可能性が推察された。

おわりに

軟骨内骨化において、骨特異性血管は非常に重要な役割を示すと考えられる。骨・軟骨移行部では血管内皮細胞が骨芽細胞やseptoclastといった様々な細胞と細胞間ネットワークを形成し、骨形成を誘導していると考えられる。今後、細胞間の相互作用についてさらなる研究が望まれる。

参考文献

- 1) Amizuka N, Hasegawa T, Oda K, Luiz de Freitas PH, Hoshi K, Li M, Ozawa H : Histology of epiphyseal cartilage calcification and endochondral ossification. *Front Biosci* 4 : 2085-4100, 2012.
- 2) Kusumbe AP, Ramasamy SK, Adams RH : Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone. *Nature*. 507(7492) : 323-328, 2014.
- 3) Tsuchiya E, Hasegawa T, Hongo H, Yamamoto T, Yoshimasa K, Amizuka N : Histochemical assessment for vascular endothelial cells and perivascular cells during endochondral ossification. Poster Session, The Joint Annual Scientific Meetings of the Endocrine Society of Australia, the Society for Reproductive Biology and the Australian and New Zealand Bone and Mineral Society 2016., Gold Coast, Australia, 2016. 8. 21-24, Program & Abstracts : 73, 2016.
- 4) Ramasamy SK, Kusumbe AP, Wang L, Adams RH : Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone. *Nature*. 507(7492) : 376-380, 2014.
- 5) Nakamura H and Ozawa H : Ultrastructural, enzyme-, lectin, and immunohistochemical studies of the erosion zone in rat tibiae. *J Bone Miner Res*. 11(8) : 1158-1164, 1996.
- 6) 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*. 20(11) : 1270-1278, 2014.