

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

成果報告書

提出日：平成30年2月14日

【基本情報】

○申請者

採 択 年 度：平成29年度

部 局 名 等：ウイルス・再生医科学研究所

職 名：助教

氏 名：亀尾 佳貴

研究課題名：マウス尾椎への繰返し力学的負荷にともなう組織内骨細胞動態解析

○渡航先

国 名：スイス連邦

研究機関名：スイス連邦工科大学チューリッヒ校

研究室名等：【研究室名】 骨生体力学研究室

【職名等・氏名】 教授 ラルフ・ミュラー

渡 航 期 間：平成29年9月1日～平成29年11月29日（90日）

○渡航期間中の出張

出 張 先：ツェルマット（スイス）

目 的：国際会議“5th Switzerland-Japan Workshop on Biomechanics (SJB2017)”に出席し、研究発表を行うため。

期 間：平成29年9月14日～平成29年9月17日

出 張 先：

目 的：

期 間：

出 張 先：

目 的：

期 間：

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

【成果】

○プロジェクトの成果及び今後の展開

・研究概要

本研究では、骨への定量的な力学的負荷実験を通じ、メカノセンサー細胞である骨細胞周囲の力学環境が、リモデリングによる骨形態変化に及ぼす影響を明らかにすることを目的としている。まず、マウス尾椎に対して、*in vivo*で周波数の異なる繰返し荷重（静荷重を含む）を一定期間負荷し、X線マイクロCTを用いて経時的な骨形態変化を調べた。無負荷のマウス尾椎との比較を通じ、荷重周波数が骨吸収・骨形成に及ぼす影響を解析した。さらに、骨切片の免疫組織化学染色により、骨細胞に発現しているリモデリング関連タンパクを可視化するとともに、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション法とqRT-PCRを組み合わせ、局所領域に存在する骨細胞の遺伝子発現解析手法を習得した。予備的な実験結果として、10 Hzの繰返し荷重を負荷したマウスでは、無負荷群に比べて骨体積分率や骨梁幅が増加し、骨吸収の抑制と骨形成の促進が生じたのに対し、静荷重を受けたマウスでは、無負荷群と有意な差は確認されなかった。その他の周波数が骨リモデリングに及ぼす影響については、現在解析中である。

・国際共同研究の立上げ・ネットワークの構築

本プロジェクトでは、骨細胞の力学状態に応じた遺伝子発現とリモデリングによる骨形態変化との関連について動物実験による検討を行った。今後は、このような*in vivo*実験を通じて蓄積された知見を基にして、骨組織内部で生じる細胞間のシグナル伝達、個々の骨構成細胞動態、および骨形態変化をコンピュータ上で再現可能な骨代謝シミュレータを開発する予定である。さらに、この骨代謝シミュレータと、ETHZの研究室が有するマウス*in vivo*力学的負荷実験系、ならびに高解像度イメージング技術を基軸として、これまで困難とされてきた海綿骨・皮質骨における骨リモデリングの統合的理解を目指した長期的な国際共同研究を計画している。

申請者の滞在した研究室が属するInstitute for Biomechanicsでは、全6研究室のメンバーが一堂に会する研究報告会を毎週開催しており、バイオメカニクス研究に携わる多くの教授や若手研究者と交流することができた。また、近年注目を集めている骨と多臓器の連関制御に関する研究展開を見据え、ETHZに隣接するチューリッヒ大学のBrain Research Instituteの研究室を訪問し、お互いの研究内容と将来展望について議論する機会を持つことができた。

・国際共著論文の投稿・発表等の状況、国際学会等での発表状況【予定を含む】

現在、下記1件の国際会議講演を予定している。

【国際会議】

Ariane C. Scheuren¹, Angad Malhotra¹, Gisela A. Kuhn¹, Yoshitaka Kameo^{1,2}, Ralph Müller¹, Cyclic but not static loading increases bone mass in mouse caudal vertebrae, 8th World Congress of Biomechanics (WCB2018), Dublin, Ireland, 2018.7.8-12.

1. Institute for Biomechanics, ETH Zurich, Switzerland

2. Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University, Japan

・在外研究経験によって習得した能力等

制御された力学環境下における骨リモデリングの経時観察を目的として、マウス尾椎への繰返し負荷試験と*in-vivo*マイクロCTを駆使した新しい研究手法を習得した。本実験を通じ、マウス尾椎にピンを挿入する手術方法から負荷試験機のメカニズム、*in-vivo*マイクロCTの撮像原理まで、一連の詳細な実験技術を学ぶことができた。また、骨組織内部に存在する細胞群の空間的なタンパク質・遺伝子発現分布を調べるため、パラフィン包埋切片の免疫組織化学染色による標準的なタンパク質発現解析と、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション法とqRT-PCRを組み合わせた局所的な遺伝子発現解析とを並行して実施し、それらの長所・短所を知ることができた。

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム 研究者派遣プログラム

滞在研究室では、個々の研究進捗報告のため、メンバー全員が出席するグループミーティングを定期的に行っていた。しかし、これはあくまで教授やグループヘッドが研究の大きな方向性を決定、もしくは修正する場としての意味合いが強く、具体的な研究内容に関しては、メンバー同士が自主的に集まって議論し、情報交換を行っていた。実際、各メンバーのオフィスの扉は、在室中、常に開放されており、建物内の各所に休憩スペースが設けられているなど、研究者同士が交流しやすい雰囲気づくりがなされていた。個人の持つ知識や技術を共有し、それらを有機的に連携させて研究を進める上で、このような日常的なコミュニケーションの重要性を改めて学んだ。

・在外研究経験を活かした今後の展開

この度の在外研究では、同年代の多くの若手研究者と交流し、人脈を広げることができた。ETHZでは、国籍も学問的背景も異なる世界トップレベルの研究者が集まっており、研究・教育に対する多様な考え方に触れることができた。彼らとの継続的な交流を通じて、新たな研究テーマを創出し、将来の国際共同研究につなげたいと考えている。また、ETHZと京都大学の研究室間での学生同士の交換留学も視野に入れており、人と知の往来により、互いの研究室が有する知識や技術を融合することで、現在計画している共同研究を成功に導きたいと考えている。

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

英文成果報告書

○申請者情報

部 局 名 : Institute for Frontier Life and Medical Sciences

職 名 : Assistant Professor

氏 名 : Yoshitaka Kameo

研究課題名 : Analysis of osteocyte dynamics within mouse caudal vertebrae in response to cyclic mechanical loading

渡 航 期 間 : 2017/9/1-2017/11/29

○渡航先情報

国 名 : Swiss Confederation

研究機関名 : Eidgenössische Technische Hochschule Zürich

研究室名等 : Laboratory for Bone Biomechanics

受入研究者名 : Professor Ralph Müller

○渡航報告

ETH Zurich Hönggerberg campus, where I spent three months, is located on the hill in the outskirts of the city of Zurich. In contrast to the surrounding greenery, the campus has a lot of modern and well-equipped buildings for research and education. The office of Laboratory for Bone Biomechanics (LBB), the group of Professor Ralph Müller, is in a stair-like building at the south end of the campus (Photo 1). You can enjoy a beautiful view from large windows in the office: pale mountains, golden corn fields, and open-range cattle. The laboratory for bone tissue experiment is on the underground floor of the adjacent building, which is called "five fingers" from its appearance (Photo 2). Both the office and the laboratory are always kept clean and functionally sophisticated; they provide an ideal environment for research.



Photo 1



Photo 2

The LBB, which belongs to the Institute for Biomechanics (IfB), is concerned with the quantification and modelling of bone at the molecular, cellular, and organ level. In this project, we aim at clarifying the effects of mechanical environment of mechanosensitive osteocytes on bone resorption/formation via remodeling. To begin with, by using a mouse-tail loading model (Photo 3) and an *in vivo* micro-CT, we investigated the morphological changes in cancellous bone subjected to cyclic loading

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

with various frequencies. Then, to investigate the relationship between the protein or gene expression in osteocytes and the local mechanical state, we conducted immunohistochemistry (Photo 4) and qRT-PCR with the combination of laser capture microdissection. Through this project, I could learn details of these techniques and found them very useful to clarify the underlying cellular mechanism in bone remodeling.

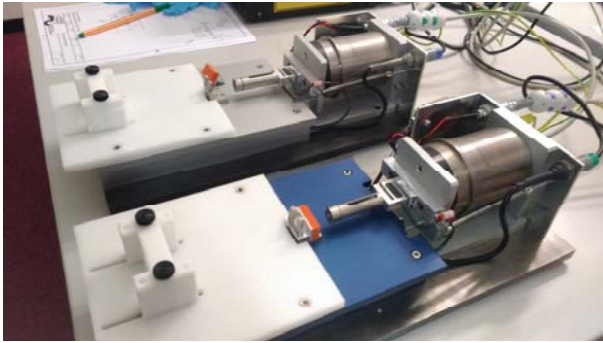


Photo 3



Photo 4

All of laboratory members usually communicate in English with each other because a majority of them come from other countries, such as Germany, US, and China (Photo 5). That is why they are very friendly toward non-native English speakers. They kindly showed me their own research and experimental techniques in detail. At the group meeting of LBB, I made a presentation about my ongoing research projects and the future direction. Through active discussion with the laboratory members, we could exchange frank opinions regarding our research interests. The discussion with Prof. Müller was especially exciting and interesting for me. We could share novel ideas about our international collaboration in the future. He and his wife invited my family to branch (Photo 6). During my stay at ETHZ, I had a lot of chances to interact with various researchers, including professors, postdocs, Ph.D. students. I would like to keep in touch with them for the further development of our mutual research.



Photo 5



Photo 6

京都大学若手人材海外派遣事業 ジョン万プログラム
研究者派遣プログラム

Finally, I wish to express my gratitude to Prof. Müller and his laboratory members for giving me an opportunity to work with them. Also, I would like to thank the financial support from the Kyoto University Global Frontier Project for Young Professionals: the John Mung Program.