

健康寿命に関わる骨粗鬆症の遺伝学的、分子生物学的 メカニズムの解明と新規治療法の開発

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学
助教 松本 佳則

(共同研究者)

University of Toronto	Professor	Robert Rottapel
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	大学院生	浅野 洋介
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	大学院生	Fang He

はじめに

健康で豊かな長寿社会を実現する為には、骨粗鬆症の予防、改善が急務である。50歳以上の日本人女性では3人に1人が骨粗鬆症を発症するといわれ、骨粗鬆症による骨折が寝たきりや要介護となる大きな要因になっている。骨量は骨形成を担う骨芽細胞と、骨吸収を担う破骨細胞のバランスにより維持されているが、それらを制御するメカニズムは明らかになっていない。“SH3BP2 (3BP2)”はpleckstrin homology (PH) ドメインの他、Src homology 3 (SH3) ドメイン含有タンパクに結合するプロリンリッチ領域や、リン酸化チロシンに結合するSH2ドメインを有し、受容体と細胞内シグナルを仲介するアダプタータンパクである。これまでの研究で3BP2は骨芽細胞や破骨細胞の分化、機能に必須の因子であることが報告されている⁽¹⁾。3BP2は下流のチロシンキナーゼSRC、Sykの活性化を通して破骨細胞の分化、機能を促進する一方、3BP2ノックアウトマウスでは破骨細胞の骨吸収能が低下し、マウスの骨量が増加する⁽²⁾。更に2001年、この3BP2の1アミノ酸置換を起こすミスセンス変異が、遺伝性骨疾患“チェルビズム”の原因であると報告された⁽³⁾。幼児期に発症する常染色体優性遺伝病のチェルビズムは、激しい顔面骨の炎症を伴う顔面変形、歯牙の脱落を特徴とする炎症性骨疾患で、破骨細胞内の3BP2発現量増加が起因する異常活性化した破骨細胞が関与している。この3BP2の機能に関連した“因子A”は骨代謝制御経路で機能することが報告されている。そこで我々は因子Aが破骨細胞の分化、機能を制御し、骨代謝をコントロールしているのではないかと考えたが、その生体内での機能は不明で、遺伝学的な検討もなされていない。

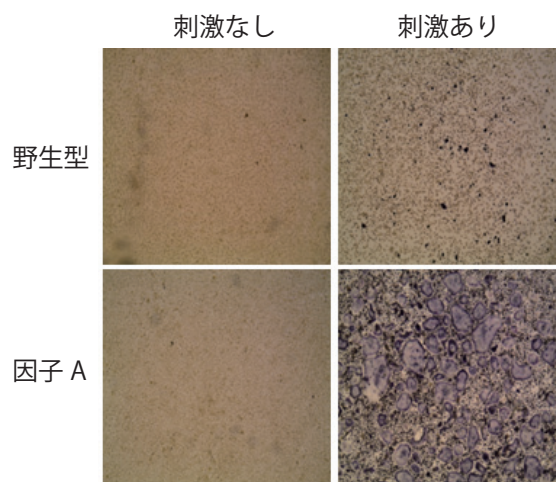
本研究では因子Aノックアウトマウスの解析を通じて、骨粗鬆症発症における因子Aの遺伝学的意義を明らかにする。

結 果

① 因子Aは破骨細胞分化、機能を制御する

まず我々は、骨髄より分離したノックアウトマクロファージをサイトカインRANKLで刺激（10ng/ml）し、破骨細胞への分化能を検討した。TRAP染色での検討では、ノックアウトマクロファージは破骨細胞への分化能が野生型に比して著明に亢進した（図1）。更に分化誘導した破骨細胞の骨吸収能を検討するため、Corning® Osteo Assay Surface 96-well Multiple Well Platesにマクロファージを播種し、RANKLで分化させて野生型とノックアウトで骨吸収能を比較した。その結果、ノックアウトマクロファージは骨吸収能も著明に亢進した。

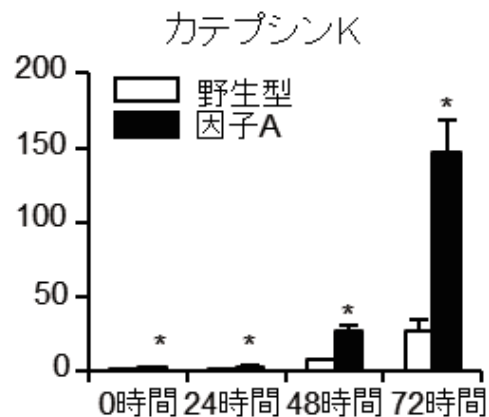
図1 RANKL刺激後のTRAP染色



② 因子Aは破骨細胞分化マーカーの発現量を制御する

次に我々は、破骨細胞の分化マーカーであるカテプシンKの発現量を検討した。TRAP染色や骨吸収能の結果に矛盾なく、因子Aノックアウト細胞ではRANKLの刺激によりカテプシンKの発現量が著明に亢進した（図2）。

図2 RANKL刺激後のカテプシンK発現量



③ 因子Aは骨量を制御する

前述の①、②の結果をin vivoで検討するため、我々はマウス大腿骨をCTスキャンで解析した。その結果、因子Aノックアウトマウスでは骨量が著明に低下し、骨粗鬆症を呈した。また因子Aと骨リモデリングの関係を明らかにする為、マウス大腿骨を用いてHistomorphometric analysisを行い、骨粗鬆症の有無や、骨芽・破骨細胞の組織学的検討を行った。その結果、因子Aノックアウトマウスでは、骨芽細胞数及び骨形成能が低下し、逆に破骨細胞数は著明に増加した。以上の結果から因子Aは、生体内において破骨細胞、骨芽細胞の分化及び機能を制御する可能性が示唆された。

④ 因子Aの骨量制御メカニズム

次に我々は、因子Aが骨代謝を制御するメカニズムの検討を行った。因子Aの下流で機能する蛋白Bに着目し、因子Aノックアウトのバックグラウンドで蛋白Bの遺伝子改変を行ったところ、因子Aノックアウトで見られた骨粗鬆症がレスキューされた。以上の結果から、因子Aは蛋白Bや下流のシグナル制御を介して骨量をコントロールしている可能性が示唆された。

考 察

本邦には1,300万人以上、また全世界では2億人以上の骨粗鬆症患者がおり、加齢、生活習慣(運動不足、食生活)、喫煙、閉経後のホルモンバランスの変化、関節リウマチやステロイド薬の使用を背景に、患者数は増加傾向である。50歳以上の日本人女性の3割が骨折や寝たきりの原因となる骨粗鬆症を発症し、骨粗鬆症を合併する80歳女性が10年間で骨折するリスクは21%と極めて高い。骨吸収を担う破骨細胞を制御する機序の解明は骨粗鬆症の克服に必須の研究テーマであるが、未だその詳細は不明である。近年、ビスフォスフォネートやデノスマブなど、破骨細胞を制御する薬剤が臨床応用されているが、重篤な骨粗鬆症の骨量を劇的に回復させることは未だ難しい。骨粗鬆症を取り巻く治療環境は十分でなく、少ない副作用で骨量改善効果の大きい画期的治療薬の開発が急務である。本研究より因子Aは破骨細胞の分化マーカーの発現量をコントロールし、破骨細胞分化や機能を制御することを示した。また生体内では破骨細胞のみならず、骨芽細胞分化も制御し、骨量維持に関与する重要な因子であることも明らかにした。骨芽細胞、破骨細胞における因子Aの機能を分子生物学的に明らかにするため、今後因子Aや蛋白Bの下流シグナルの検討を進めていく必要がある。また本研究成果から、因子Aは骨粗鬆症の新たな治療ターゲットになり得ると考えており、新規薬剤の開発も進めていきたい。未だ克服が困難で、国民の健康やQOLに大いなる影響を及ぼす“骨粗鬆症”の病態解明、治療法開発はまだ道半ばであるが、本研究をご支援頂いた大和証券ヘルス財団の皆様方に感謝致します。

要 約

健康で豊かな長寿社会を実現する為には、骨粗鬆症の予防、改善が急務である。50歳以上の日本人女性では3人に1人が骨粗鬆症を発症するといわれ、骨粗鬆症による骨折が寝たきりや要介護となる大きな要因になっている。骨量は骨形成を担う骨芽細胞と、骨吸収を担う破骨細胞のバランスにより維持されているが、それらを制御するメカニズムは明らかになっていない。本研究より因子Aは破骨細胞の分化マーカーの発現量をコントロールし、破骨細胞分化や機能を制御することを示した。また生体内では破骨細胞のみならず、骨芽細胞分化も制御し、骨量維持に関与する重要な因子であることも明らかにした。本研究成果から更に研究を進め、圧迫骨折や大腿骨頸部骨折など脆弱性骨折を予防し、寝たきりの人を減らすために必要な薬剤の開発に取り組みたい。

文 献

1. Matsumoto Y, La Rose J, Kent OA, Wagner MJ, Narimatsu M, Levy AD, Omar MH, Tong J, Krieger JR, Riggs E, Storozhuk Y, Pasquale J, Ventura M, Yeganeh B, Post M, Moran MF, Grynepas MD, Wrana JL, Superti-Furga G, Koleske AJ, Pendergast AM, Rottapel R. Reciprocal stabilization of ABL and TAZ regulates osteoblastogenesis through transcription factor RUNX2. *J Clin Invest.* 126(12):4482-4496, 2016
2. Levaot N, Simoncic PD, Dimitriou ID, Scotter A, La Rose J, Ng AH, Willett TL, Wang CJ, Janmohamed S, Grynepas M, Reichenberger E, Rottapel R. 3BP2-deficient mice are osteoporotic with impaired osteoblast and osteoclast functions. *J Clin Invest.* 121 (8) :3244-3257, 2011
3. Ueki Y, Tiziani V, Santanna C, Fukai N, Maulik C, Garfinkle J, Ninomiya C, doAmaral C, Peters H, Habal M, Rhee-Morris L, Doss JB, Kreiborg S, Olsen BR, Reichenberger E. Mutations in the gene encoding c-Abl-binding protein SH3BP2 cause cherubism. *Nat Genet.* 28 (2) :125-126, 2001