

【論文題目】骨代謝における Dcir の役割

修了年月 2008 年 3 月

新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻

学籍番号:47-66959 氏名: 島森 一輔

指導教官: 岩倉 洋一郎 教授

【キーワード】

骨代謝、骨芽細胞、破骨細胞、Dcir、骨パジェット病

【背景】

骨代謝は骨形成に関わる骨芽細胞と骨吸収に関わる破骨細胞により担われ、骨形成と骨吸収を繰り返すことで骨量を正常な状態に保っている。さらに骨芽細胞は破骨細胞促進因子である Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)や破骨細胞分化抑制因子である Osteoprotegerin (OPG)を介し、破骨細胞前駆細胞と相互作用を持つことにより骨量の調節を行っている。これらのバランスが崩れると骨量の減少や骨量の増加が引き起こされ、骨粗鬆症や大理石骨病、骨パジェット病など骨代謝疾患を引き起こす原因となる。またこれらの細胞は関節リウマチなどで見られる炎症性骨破壊にも関わっており、炎症性サイトカインにより破骨細胞が活性化することで骨破壊が引き起こされる。このように骨代謝の異常により多くの疾病が引き起こされるが、この骨代謝の調節のメカニズムについては不明な点が多く、早急な解明が望まれている。

Dendritic cell inhibitory lectin (Dcir)はC型レクチンレセプターの一つであり、細胞外に糖鎖認識ドメインを、細胞内に抑制性のシグナル伝達モチーフである Immuno-receptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM)を有している。我々は関節炎の発症機構を調べるため、独自に開発した2種類の関節リウマチモデルマウスを用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、2種類のマウス関節部でDcirの発現が亢進していることが明らかになった。関節炎発症におけるDcirの役割を調べるため、Dcir遺伝子欠損マウスを作製し解析を行ったところ、Dcirは免疫系においてGM-CSFシグナルを抑制することで樹状細胞の分化、増殖に関与し、自己免疫疾患の発症に関わっていることが明らかになった。さらにこのマウスでは加齢に伴って後肢足根関節の強直を伴う関節炎を自然発症した。この病理を解析した結果、関節強直部では関節軟骨の異常と石灰化組織の増加が認められた。さらに加齢マウス大腿骨において骨量の減少が見られたことからDcirが骨代謝に関わっている可能性が示唆された。

【目的】

骨代謝におけるDcirの役割を明らかにし骨代謝における骨量決定のメカニズムを明らかにすると共に、関節炎におけるDcirの機能を明らかにすることを本研究の目的として解析を行った。

【方法】

骨代謝におけるDcirの役割を明らかにするため、Dcir欠損マウスを用いて、大腿骨量の解析、*in vitro*における骨芽細胞、破骨細胞の機能解析などを行った。また、Dcirの転写制御機構を明らかにするため、情報科学的手法を用いて転写因子予測を行った。

【結果】

骨代謝が盛んな時期である 8 週齢の **Dcir** 欠損マウスを用い、 μ CT 解析により大腿骨の骨量を調べた結果、**Dcir** 欠損マウスでは野生型に比べ、骨量が増加していることが明らかになった。この原因を明らかにするため、生体内において骨形成の指標となる石灰化速度を調べたところ **Dcir** 欠損マウスでは石灰化速度が増加していた。一方、骨吸収に関わる破骨細胞数も **Dcir** 欠損マウスでは増加していることが明らかになった。これらの結果から **Dcir** 欠損マウスでは骨形成と骨吸収が共に亢進し骨代謝が活性化されていると考えられる。

次に **Dcir** 欠損マウスでは骨量の増加が観察されたので、骨芽細胞における **Dcir** の機能を解析した。新生児頭蓋骨由来の骨芽細胞を用い、石灰化や骨基質産生を **Dcir** 欠損マウスと野生型で比較したところ、**Dcir** 欠損マウスでは石灰化が亢進し、骨基質である I 型コラーゲンやオステオカルシンの発現が亢進していた。次に私は破骨細胞における **Dcir** の役割を明らかにするため、*in vitro* において破骨細胞の分化誘導実験を行った。その結果、**Dcir** 欠損マウスでは *in vitro* においても破骨細胞形成が亢進していた。また **Dcir** 欠損マウス由来の破骨細胞前駆細胞では GM-CSF に対する感受性が高くなり、細胞増殖速度が亢進していることが明らかになった。これらの結果から *in vitro* においても骨芽細胞と破骨細胞が活性化していることが明らかになった。

また **Dcir** 欠損マウスを用い、骨芽細胞による破骨細胞分化誘導能を調べたところ、**Dcir** 欠損マウス由来の骨芽細胞では OPG の発現が亢進し破骨細胞形成を抑制していることが明らかになった。さらに *in silico* において転写因子データベースである TRANSFAC を用い、**Dcir** の発現に関わる転写因子の予測を行ったところ、RANKL 下流で働く NFATc1、NF κ B などの転写因子が **Dcir** の発現制御に関わっていることが示唆された。以上の結果から、**Dcir** は骨形成と骨吸収、また破骨細胞分化能を抑制的に制御することで骨量の維持に関わっていると考えられる。

【考察】

今回解析を行った結果、**Dcir** が骨代謝に関与し、破骨細胞と骨芽細胞において抑制的な機能を持つことが明らかになった。破骨細胞では **Dcir** が GM-CSF シグナル抑制していることが示唆されたが、骨芽細胞においてどのようなシグナルを抑制しているかは明らかになっていない。今後、骨芽細胞において詳細な解析が必要である。また転写因子の予測を行ったところ、RANKL の下流で働く転写因子が **Dcir** の発現に関わっていることが示唆された。今後、ルシフェラーゼアッセイなどによりこれを直接確かめる必要がある。さらに **Dcir** 欠損マウスで破骨細胞形成が亢進していたことから、**Dcir** が炎症性骨破壊に関わっていることが示唆された。実際、**Dcir** 欠損マウスではコラーゲン誘導関節炎が増悪化することが知られている。今後、この増悪化に破骨細胞が関与するのかを明らかにする必要がある。本研究の結果、骨代謝制御における **Dcir** の役割が明らかになった。これらの知見は炎症性骨破壊を伴った関節リウマチや骨代謝疾患である骨粗鬆症や大理石骨病、また高代謝回転病である骨パジェット病などの創薬に繋がると考えられる。