

論文の内容の要旨

論文題目 骨の恒常性維持に於けるヘッジホッグ-Gli1 シグナルの役割に関する研究

北浦 義昭

ヘッジホッグ (Hh) シグナルは、胎生期の細胞の運命決定や器官形成に不可欠な因子であり、種を越えて高度に保存されていることが知られている。Hh シグナルの転写因子である Gli ファミリーは、脊椎動物では Gli1、Gli2、Gli3 の3種が存在しているが、Gli2、Gli3 の機能は比較的よく調べられているのに対して、Gli1 の機能についてはよく知られていない。Hh シグナル自体も、胎生期の作用については多くのことが明らかになっているが、成体での役割については依然として未知の部分が多く残されている。

そこで、本論文では、成体の骨の恒常性に対する Hh-Gli1 シグナルの役割を明確にすることを目的とし、生理的状态と骨折による病態時の作用について検討した。

Gli1 完全欠損マウスは、体長・体重共に小さく、出生後の生存率も低いことから、全身的影響が大きく、骨形態の評価には適さない。対して、Gli1 ヘテロマウスは、体長・体重は WT と同等レベルでありながら、成体での骨量が大きく低下することがマイクロ CT 及び骨形態計測により明らかとなった。一方、骨折という病態時の治癒過程にも大きな差を生じ、Gli1 ヘテロマウスの仮骨の形成量はマイクロ CT 解析により、WT と比べて有意に低下していることが分かった。さらに、骨折部の組織観察の結果、仮骨形成量の低下は骨折治癒過程の膜性骨化、軟骨内骨化双方の低下によることが明らかになった。

以上のような成体の生理的状态、または病態時の骨の恒常性維持に対する Gli1 欠損の影響のメカニズムを探るため、マウスの頭蓋冠からの骨芽細胞や、長管骨から採取した骨髄間葉系細胞から誘導した骨芽細胞を調べた結果、Gli1 ヘテロマウスの骨芽細胞は、骨形成関連遺伝子の発現が有意に低下していた。さらに、骨髄細胞から誘導した骨芽細胞と破骨細胞の前駆細胞の共培養試験の結果、Gli1 ヘテロでは、破骨細胞の分化が促進されることが分かった。これらの傾向は、骨形態計測の結果とよい一致を示した。

従って、Gli1 ヘテロマウスで生じた骨量の低下は、骨形成能の低下だけでなく、骨吸収能の亢進との重合作用に起因することが明らかになった。このような作用は、通常骨のリモデリングに於ける、骨芽細胞、骨細胞、破骨細胞間の RANKL、OPG を介したカップリング反応から逸脱したアンカップリング作用を生じていることを示している。

そこで、さらに骨髄から誘導した骨芽細胞を詳細に調べた結果、Gli1 ヘテロ骨芽細胞は、破骨細胞分化誘導因子である RANKL の発現が有意に高いだけでなく、骨細胞マーカーである Dmp1 や Sclerostin の発現も亢進しており、骨形成能が不十分なまま、成熟骨芽細胞

への分化をスキップし、骨細胞への分化が進行していることが示唆された。

最後に、8週齢のマウスを用いた骨折モデルに対して、Gli1を発現するアデノウイルスベクターを投与して、Gli1を強制発現させたところ、Gli1ヘテロマウスに於いてもWTレベルに仮骨形成量が回復することを確認した。

以上、Hh-Gli1シグナルは、成体での骨芽細胞の初期分化の促進と、骨細胞分化の抑制という作用を通して、骨芽細胞、骨細胞、破骨細胞間のカップリング反応に関与し、骨の恒常性維持に重要な役割を果たしていると考えられる。

本研究により、Hh-Gli1シグナルが、胎生期だけでなく、成体の骨の恒常性維持に重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに、骨芽細胞、骨細胞と破骨細胞のカップリング反応に作用し、リモデリングのバランスを大きく左右する因子であることも示唆された。本研究によって、Gli1による成体の骨恒常性維持機構の一端が明らかになった。このような個々のシグナルの作用に関する正確な理解と、その理解に基づくHhシグナルの精密制御が骨関連疾患の治療や予防戦略の分子的基盤になると期待される。