

## 骨吸収・骨形成のメカニズム

山下 照仁／高橋 直之

### Summary

骨代謝は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収によって、日々ダイナミックに変化している。相反する活性をもつそれぞれの細胞群は、お互いを分化誘導し活性化させるためにユニークなシグナルをやり取りしている。つまり、骨形成と骨吸収を担うこれらの細胞間のコミュニケーションを知ることによって、老化や閉経期に伴う骨代謝のバランスの変動を予想し対処することが可能になるだろう。本編では、骨代謝のコミュニケーションに関わるメカニズムについて述べたい。

### Key words

骨芽細胞●破骨細胞  
高回転型骨粗鬆症  
RANKL/RANK シグナル●カップリング

Teruhito Yamashita

松本歯科大学口腔生化学講座講師

Naoyuki Takahashi

松本歯科大学総合歯科医学研究所教授

### はじめに

骨代謝は骨吸収を担う破骨細胞と骨形成を担う骨芽細胞のそれぞれの活性のバランスによって、常時変化しつつ成長に応じて吸収と形成の平衡状態にある。たとえば、老化に伴う低回転型骨粗鬆症では、骨吸収が徐々に低下すると同時に骨形成活性もさらに落ちていく。そして、長期的には骨形成低下が優位なため総骨量が減少するのである。本論では、それぞれの活性を担う破骨細胞や骨芽細胞の分化活性化に直接関わる因子を述べて、それらの相互作用による代謝メカニズムにせまりたい。

### 骨吸収のメカニズム

骨髄中の間質細胞や骨芽細胞はその細胞表面に破骨細胞誘導因子 RANKL (receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand) を発現し、単球マクロファージ系の前駆細胞の RANK (RANKL の受容体) に結合して破骨細胞分化を誘導する。また、RANKL/RANK シグナルは細胞分化のみならず破骨細胞の骨吸収の活性化にも必要とされている。つまり、RANKL/RANK によるシグナル伝達によって骨吸収に関わる機構全体が誘導されている。

これら骨芽細胞が RANKL を発現するにあたり、①骨芽細胞自身の増殖や骨形成の活性化に付随する RANKL の総発現量の上昇、と②骨吸収誘導因子による RANKL 遺伝子プロモータに対

する直接的な発現の亢進が考えられる。また、骨芽細胞は RANKL に結合する可溶性受容体 OPG (osteoprotegerin, 破骨細胞形成阻害因子) を分泌する。この生理的な阻害因子 OPG は、RANKL に特異的に結合することによって RANKL/RANK のシグナルを抑制することが示されている。よって骨芽細胞は破骨細胞に対する正と負のメディエータを自ら発現し、骨吸収の制御をしている。

さらに、骨芽細胞を介さない破骨細胞の制御も考えられている。たとえば、炎症時にマクロファージなどの免疫細胞が分泌するサイトカイン TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) や IL-1 (interleukin-1) などは T 細胞に作用し、活性化した T 細胞は RANKL を強く発現して破骨細胞を活性化すると考えられる。また、TNF- $\alpha$  は破骨細胞の前駆細胞に直接作用し、成熟破骨細胞への分化を促進することも知られている (図 1)。

老人性骨粗鬆症においては前述のように骨形成・骨吸収ともに低下しているが、女性の閉経後初期にみられる高回転型の骨粗鬆症では、エストロゲンの減少による一過性の骨形成の上昇がみられ、同時に IL-1 や IL-6 および TNF- $\alpha$  の上昇による破骨細胞分

化の誘導と骨吸収機能の亢進が起こる。その後骨形成が徐々に低下するにもかかわらず、破骨細胞による骨吸収は継続する。そのため、骨梁の高次構造が破壊されリモデリングが不可能になり、骨粗鬆症を呈すると考えられている。

### 1. RANKL/RANK シグナルによる破骨細胞分化

単球マクロファージ系の破骨細胞前駆細胞は、M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) の存在下で RANKL/RANK シグナルにより分化が誘導され、成熟破骨細胞になっていく。RANKL 欠損マウスあるいは RANK 欠損マウスはともに破骨細胞を欠き大理石病を呈することからも、RANKL/RANK シグナルは破骨細胞分化に必須であることがわかる。TNF 受容体スーパーファミリーの 1 つである RANK はアダプター分子である TRAF (TNF receptor associated factor) 1, 2, 3, 5, 6 が結合し、そのなかでも TRAF6 が破骨細胞分化に必須であることが示されている。その下流では転写因子の AP-1 や NF- $\kappa$ B, ATF2 の活性化が誘導され、破骨細胞分化に至ると考えられている<sup>1)</sup>。

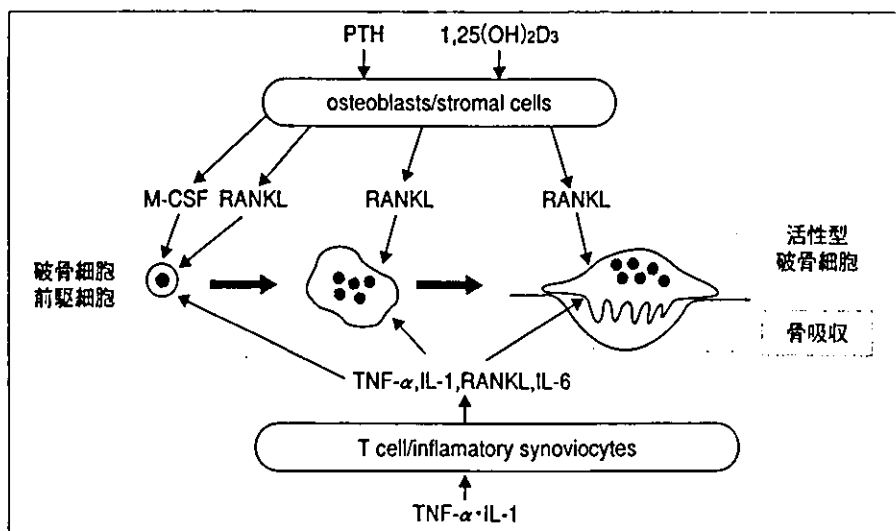


図1 骨吸収を促進する因子

## 2. 骨芽細胞を介する破骨細胞の分化誘導と活性化

骨芽細胞は、全身性の骨吸収促進因子である副甲状腺ホルモン PTH や活性型ビタミン $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の受容体を豊富に発現しており、それらの刺激が入ることにより骨芽細胞における RANKL の発現上昇および OPG の発現抑制が観察される。一方、破骨細胞前駆細胞では PTH や活性型ビタミンの受容体の発現はわずかであり、もっぱら骨芽細胞を介した制御を受けていると考えられる。また、局所で産生される  $\text{PGE}_2$  (prostaglandin  $\text{E}_2$ ) は、骨芽細胞膜上に発現した受容体 EP2/EP4 を介してオートクリン的に作用する。受容体から入った  $\text{PGE}_2$  シグナルは、PTH シグナルと共通に cAMP/PKA 経路を活性化して、RANKL の発現上昇および OPG の発現抑制を介して破骨細胞の分化を誘導すると考えられている。さらに骨芽細胞は構成的に M-CSF を産生している。このように骨芽細胞は RANKL と M-CSF を産生することで破骨細胞の分化を誘導する。

## 3. IL-1による破骨細胞の活性化

炎症性サイトカインの IL-1 は、破骨細胞前駆細胞に富み骨芽細胞・間質細胞の少ない脾臓細胞の培養系では成熟多核破骨細胞を誘導しないが、単離した成熟破骨細胞に対しては直接骨吸収活性を上げることが示されている。以上の知見から、IL-1 は破骨細胞の機能充進に重要な因子と考えられている<sup>2)</sup>。IL-1 の刺激を受けると細胞膜上の IL-1R (IL-1 受容体) は IL-1RAcP (IL-1 受容体アクセサリタンパク) とともに活性化し、アダプタータンパク質 MyD88 (myeloid differentiation factor 88) を介してシグナルを細胞内に伝達する。TRAF2, TRAF5 と直接結合する TNF 受容体と異なり、IL-1 受容体からのシグナルは MyD88 を介する TRAF6 シグナル経路に限られる。IL-1/IL-1R シグナル系は RANKL/RANK 系と同じ

TRAF6 を共有するにもかかわらず、IL-1 は破骨細胞分化を誘導しない。これらのことから、RANKL/RANK に特異的な分化誘導シグナルの存在、あるいは IL-1/IL-1R シグナルに特異的な阻害経路の存在が予想される。

## 4. TNF- $\alpha$ による破骨細胞の分化と活性化

TNF- $\alpha$  は炎症時にマクロファージや T 細胞から分泌されるサイトカインで、T 細胞に対し RANKL の発現を誘導したり、破骨細胞前駆細胞に直接作用したりして、その分化と活性化を誘導することが知られている。ヒト型 TNF を過剰発現するトランスジェニックマウスでは、リウマチ性骨破壊が関節で促進されるが、その病変部位において滑膜細胞が IL-1 や TNF- $\alpha$  の刺激を受けて RANKL を強く発現していることが示されている。TNF- $\alpha$  はその受容体 TNFR I および TNFR II と結合し細胞内にシグナルを伝達する。それぞれの受容体の欠損マウスの研究から、TNFR I は破骨細胞の分化誘導に必須であったが、TNFR II は必要ないことが示されている。TNF 受容体ファミリーの一員である RANK と異なり、TNF 受容体は TRAF2 および TRAF5 と高親和性を示す。<sup>4)</sup>

このことにより、TNF- $\alpha$  による破骨細胞の分化と活性化は、この2つの TRAF アダプター分子が相補的に TNF シグナルを伝達していると思われる。TNF- $\alpha$  は単独で破骨細胞形成を支持することが示されている一方、低濃度の RANKL の共刺激が必要であるという知見も報告されており、TNF シグナルを介する破骨細胞分化のメカニズムの詳細は現在も解明されていない<sup>3)</sup>。

## 5. IL-6による破骨細胞分化と活性化

サイトカイン IL-6 が閉経後骨粗鬆症の発症に関与していることが、卵巣摘除 (OVX) によるエストロゲン欠乏の動物モデル実験で明らかにされている。OVX 後の骨髄中の IL-6 の発現上昇が観察され

ること、IL-6欠損マウスにOVX処理をしても骨量減少が観察されないことが報告されている<sup>9)</sup>。また、IL-6は破骨細胞前駆細胞に間接的に働きかけて、その分化誘導をすることも示唆されている。

一方、骨芽細胞はIL-6受容体を発現していない。そのため、IL-6は可溶性受容体であるsIL-6Rとともにgp130に結合し、骨芽細胞のRANKLの発現を促して、破骨細胞分化を誘導すると考えられている。IL-6受容体と複合体を作るgp130は、IL-11やOSM、LIFの受容体と共有される受容体サブユニットであり、そのシグナル伝達は複雑にクロストークしていることが示唆されている。リガンドの結合によりgp130に結合しているJAK1(Janus kinase 1)がリン酸化されると、それを契機に、受容体に新たに結合したSTAT3(signal transducer and activator of transcription 3)がJAK1によってリン酸化される。リン酸化されたSTAT3が受容体から解離し、転写因子活性を獲得することで標的遺伝子の発現が誘導される。

また、IL-6の刺激によりRasを介したMAPキナーゼが活性化されることも報告されているが、RANKLの発現誘導に対するSTATとMAPキナーゼのクロストークの詳細は明らかではない。さらに、ヒトの末梢血中のCD14陽性前駆細胞に対してIL-6は直接破骨細胞分化を誘導するという報告もあり、RANKL/RANKシグナルを介さないメカニズムも考慮する必要がある。

## 骨形成のメカニズム

骨芽細胞は間葉系幹細胞を起源として骨形成を担う細胞である。骨髄中に存在する間葉系幹細胞は骨芽細胞のみならず脂肪細胞、軟骨細胞および筋芽細胞にも分化することが知られている。老化に伴う骨粗鬆症などの骨量減少を示す骨代謝疾患において、脂肪細胞の分化が促進していることが観察されている。その結果、骨芽細胞の分化はむ

しろ抑制され、骨形成の低下をきたす。また、閉経後の骨粗鬆症にみられるような高回転型の骨代謝疾患においては、過剰な骨吸収によって骨形成のための足場が失われる。そのため骨吸収と骨形成のバランスは不可逆的に吸収側に傾き、骨量の減少につながる。

現在までに明らかにされた知見から、骨形成促進は活性化された骨芽細胞自身の分泌する因子によるパラクリン的な作用と、骨吸収に伴って骨基質から放出される因子によるマトリクリンに大きく依存していると考えられる。骨形成を誘導するパラクリン/マトリクリン因子としてTGF $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ )、BMP(bone morphogenetic protein)、FGF(fibroblast growth factor)、IGF(insulin-like growth factor)などが報告されている。いずれも骨芽細胞が新生骨を形成するときに多量に分泌し、骨吸収に伴って骨基質中から遊離してくる因子である。そのなかでも特に骨芽細胞の初期分化に重要なBMPは、そのシグナルにより活性化された転写因子Smad複合体が、骨芽細胞分化に必要な転写因子Runx2(runt-related gene 2; Cbfa1)と共役して、幹細胞を骨芽細胞へと分化させ骨形成を亢進することが明らかになっている<sup>9)</sup>。

### 1. BMPによる骨芽細胞分化と活性化

BMPは骨形成を行っている骨芽細胞が盛んに分泌しており、新生骨のなかに多量に埋伏される。分泌されたBMPは、直接周辺の骨芽細胞にオートクリン/パラクリン的に作用して、局所における骨形成機能を同調的に上げていると考えられる。一方、そのように埋伏されたBMPは、破骨細胞による骨吸収過程において活性化され周辺に放出される。これらが骨吸収後の骨芽細胞分化を誘導し、新たな骨形成が始まると考えられる。BMP-2はI型受容体(ALK3, ALK6)およびII型受容体(BMPRII, ActRII, ActRIIB)から

成るヘテロ二量体と会合し、リガンド特異型 Smad1/5/8をリン酸化する。一方、抑制型 Smad 6/7はI型受容体に結合して他の Smad 分子のリン酸化を阻害することが知られており、そのうちの Smad6は BMP シグナルの標的遺伝子で BMP 刺激により発現誘導される。このように、BMP は骨形成を誘導すると同時に Smad を介してシグナルのオン/オフをこまめに制御して、過剰な骨形成を抑制していると考えられる<sup>7)</sup>。

## 2. TGF $\beta$ による骨芽細胞の活性化

TGF $\beta$ は不活性な潜在型として骨芽細胞から分泌され、骨基質中に大量に埋伏される。破骨細胞は酸性条件下で骨を吸収するが、この酸性条件により潜在型 TGF $\beta$ は活性抑制部分が切断されて活性化されると考えられている。活性型 TGF $\beta$ は未分化な前骨芽細胞を分化誘導するとともに、骨基質タンパク質の合成を促進する。TGF $\beta$ 受容体は TGF $\beta$ 受容体スーパーファミリーを形成しており、さらに、TGF $\beta$ がII型受容体に結合することでI型受容体との会合をひき起こし、シグナル分子 Smad2/3をリン酸化してその転写因子としての機能を誘導する。また、BMP シグナルと同様に、TGF $\beta$ は抑制型 Smad7の発現を誘導し、TGF $\beta$ の過剰なシグナル伝達を抑制していると考えられる<sup>8)</sup>。

## 3. ホルモンによる骨芽細胞の活性化

1,25(OH) $_2$ D $_3$ は骨芽細胞に作用して、核内受容体 VDR と結合し標的遺伝子の発現を制御する全身性の骨代謝関連ホルモンの1つである。前述のように、1,25(OH) $_2$ D $_3$ はその標的遺伝子 RANKL の発現を亢進させ、同時に OPG の発現をも抑制することから、破骨細胞の分化および骨吸収活性を強力に誘導する。一方、オステオポンチンやオステオカルシンなどの骨基質タンパクのプロモータにビタミンD応答配列 VDRE が存在すること

から、1,25(OH) $_2$ D $_3$ は骨芽細胞の機能の亢進にも重要な作用をもっている。骨粗鬆症において活性型ビタミンDは治療薬として用いられるが、それは骨芽細胞や破骨細胞の分化や活性化を誘導するとともに、腸管からの Ca 吸収の促進作用も重要な作用の1つであるためと考えられる。

PTH も骨代謝に関与することが示されているホルモンの1つである。PTH の持続的な投与は骨吸収亢進をもたらす、骨量は減少する。そして、破骨細胞には PTH 受容体が発現していないことから、PTH による骨吸収活性の亢進には、骨芽細胞を介した RANKL/RANK シグナルが必須であると考えられる。一方、間欠的に PTH を投与することで骨形成が誘導される。このことより PTH は骨吸収を促進するとともに、骨形成を促進するアナボリックな作用をもつと考えられている。PTH は7回膜貫通型のI型受容体 PTHR I を介して細胞内シグナルの活性化をひき起こす。間欠的な PTH の作用が骨芽細胞の分化を誘導する際、cAMP/PKA と PKC の両シグナル系が関与すると報告されているが、その詳細は不明である。その一方で、持続的な PTH の作用は、PKC を介する PTH 受容体のリン酸化による脱感作がその抑制機構として示唆されている。そして PKC シグナルは RANKL の発現を誘導することから、PTH は持続的でも間欠的でも破骨細胞に対して亢進する作用があると考えられる<sup>9)</sup>。

## 4. 骨形成と骨吸収のカップリング

骨形成の亢進に先立って骨吸収の促進が認められることから、骨吸収に依存した骨形成の誘導が起こっていること、つまり骨吸収と骨形成が共役していることが予想されてきた。OPG 遺伝子欠損マウスでは、骨吸収のみならず骨形成も著しく亢進していること、骨吸収阻害薬であるビスフォスフォネートを投与すると、骨吸収の抑制に伴い骨形成も完全に抑制されることなどが観察され

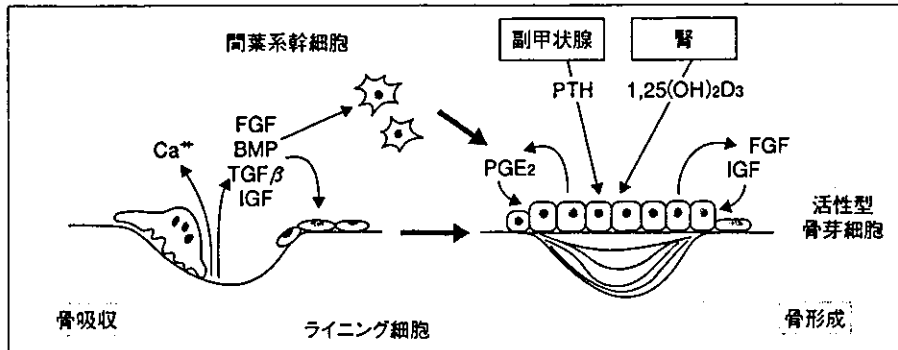


図2 骨形成と骨吸収のカップリング


る<sup>10)</sup>。以上のことから、骨代謝の共役(カップリング)(図2)を司る因子の存在が強く示唆されるが、その実態はまだ明らかになっていない。

## おわりに

骨代謝の制御は骨形成と骨吸収の巧みなバランスをとることであり、全身性および局所性の因子が、その担当細胞である骨芽細胞と破骨細胞のコミュニケーションの仲立ちをしている。本編では述べなかったが、エストロゲンはいずれの細胞にも働くメディエータとして重要な役割を担っている(本特集、久具の項)。この数年で、骨芽細胞から破骨細胞に直接作用する重要なシグナルが相次いで同定された。今後は、破骨細胞から骨芽細胞に対する新たな「カップリング・ファクター」が明らかになっていくものと予想される。

## 文献

- 1) Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL : Osteoclast differentiation and activation. *Nature* **423** : 337-342, 2003
- 2) Jimi E, Nakamura I, Ikebe T, et al : Activation of NF-kappaB is involved in the survival of osteoclasts promoted by interleukin-1. *J Biol Chem* **10** : 8799-8805, 1998
- 3) Kaji K, Katogi R, Azuma Y, et al : Tumor necrosis factor alpha-induced osteoclastogenesis requires tumor necrosis factor receptor-associated factor 6. *J Bone Miner Res* **16** : 1593-1599, 2001
- 4) Lam J, Takeshita S, Barker JE, et al : TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* **106** : 1481-1488, 2000
- 5) Kimble RB, Bain S, Pacifici R : The functional block of TNF but not of IL-6 prevents bone loss in ovariectomized mice. *J Bone Miner Res* **12** : 935-941, 1997
- 6) Komori T, Yagi H, Nomura S, et al : Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* **30** : 755-764, 1997
- 7) Hogan BL : Bone morphogenetic proteins ; Multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes Dev* **10** : 1580-1594, 1996
- 8) Hu PP, Datto MB, Wang XF : Molecular mechanisms of transforming growth factor-beta signaling. *Endocr Rev* **19** : 349-363, 1998
- 9) Swarthout JT, D'Alonzo RC, Selvamurugan N, et al : Parathyroid hormone-dependent signaling pathways regulating genes in bone cells. *Gene* **9** : 1-17, 2002
- 10) Nakamura M, Udagawa N, Matsuura S, et al : Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption. *Endocrinology* (in press)

 ライフサイエンス出版

TEL (03) 3664-7900 (代表)

【禁 無断転載・複製】

# RANKL/RANK 系による骨吸収の制御

溝口利英 高橋直之

Toshihide Mizoguchi, Naoyuki Takahashi: 松本歯科大学総合歯科医学研究所

## ● はじめに

骨組織は骨吸収と骨形成を繰り返すことにより常に新しい組織に置き換えられている。破骨細胞は骨吸収を司る唯一の多核細胞で、骨芽細胞・骨髄由来ストローマ細胞の調節機構の下で単球・マクロファージ系の前駆細胞より分化し、多核化する。近年、破骨細胞の分化および活性化を誘導する因子 receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) が発見され、この細胞の分化と活性化機構が詳細に解析されるようになった。本稿では、破骨細胞の分化と活性化をどのようなシグナル伝達系が調節するか、最近の知見を紹介したい。

## ● RANKL/RANK 系による破骨細胞制御機構

1988年、破骨細胞の形成を試験管内で解析できるマウスの骨芽細胞と造血系細胞の共存培養系が確立され、破骨細胞の分化は骨芽細胞により厳密に調節されていることが示された<sup>1)</sup>。1990年、*op/op* マウスの解析より、骨芽細胞が産生するマクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)が破骨細胞の分化に必須な因子であることが判明した<sup>1,2)</sup>。さらに1998年、破骨細胞分化因子がクローニングされ、TNF (tumor necrosis factor) ファミリーに属する膜結合型蛋白質であるRANKLと同一蛋白であることが明らかにされた<sup>3,4)</sup>。この発見により、骨吸収の一端が分子レベルで解明されるに至った。すなわち、骨芽細胞は破骨細胞の分化に必須な2つの因子M-CSFとRANKLを発現することで、破

骨細胞の形成を支持する<sup>1,5)</sup>。一方、破骨細胞前駆細胞は、M-CSF 受容体 c-Fms と RANKL 受容体 RANK を発現し、これら2つのサイトカインからの刺激を受け、破骨細胞に分化する。骨芽細胞はM-CSFを恒常的に発現する。一方、各種の骨吸収因子は、骨芽細胞に作用しRANKLの発現を誘導する<sup>1)</sup>。そのため骨芽細胞におけるRANKLの誘導機構の解明は、重要な研究課題の1つになっている。また、成熟破骨細胞はRANKを発現しており、RANKLは破骨細胞の骨吸収活性を誘導する<sup>1,5,6)</sup>。さらに興味深いことに、骨芽細胞はRANKLのデコイ受容体であるosteoprotegerin (OPG)を分泌する<sup>1,5,7)</sup>。OPGはRANKL-RANK相互作用を阻害し、骨吸収を強力に抑制する。以上のように、骨芽細胞はRANKLとOPGの発現調節を介して破骨細胞の分化と機能を調節する。

## ● 破骨細胞の分化を誘導する RANK シグナル

RANKの細胞内ドメインは、シグナル伝達因子であるTNF receptor associate factor 1 (TRAF1), TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6と会合する<sup>8)</sup>。とりわけ、TRAF6ノックアウトマウス由来の破骨細胞前駆細胞は破骨細胞に分化しにくいことより、TRAF6を介するシグナルが破骨細胞の分化において重要であると考えられている<sup>9)</sup>。TRAFを介したシグナルは、さらにNF- $\kappa$ B, c-jun N-terminal kinase (JNK), p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) および extracellular signal regulated kinase (ERK) など



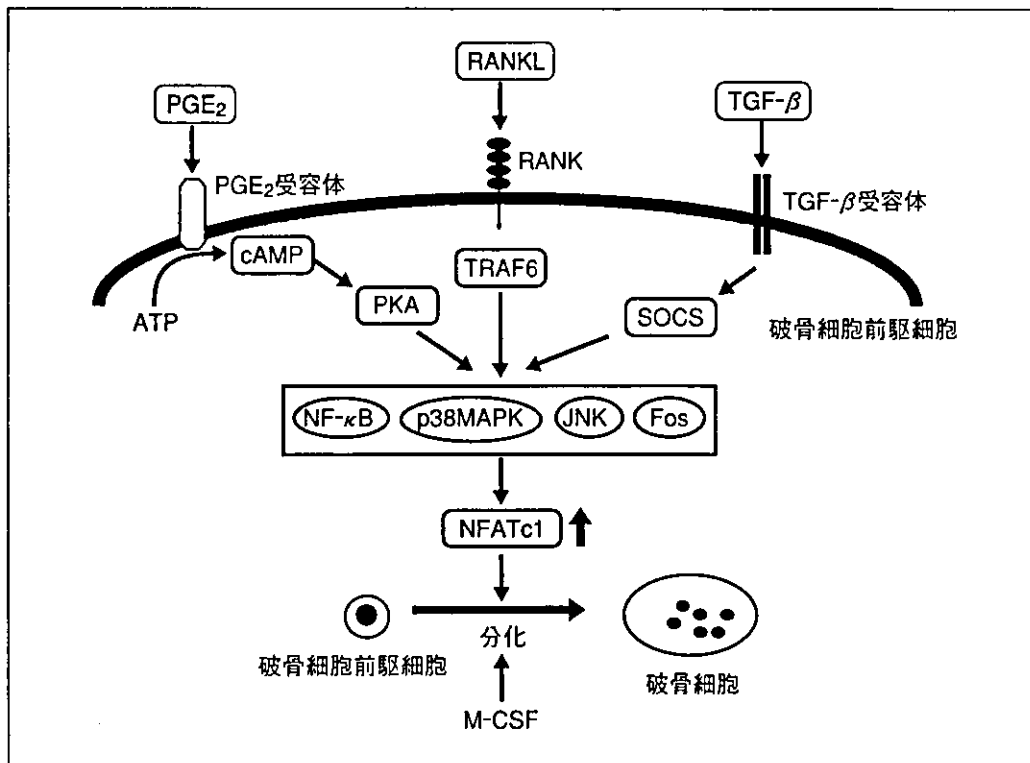


図 1 破骨細胞の分化を誘導する RANK シグナル

を活性化する<sup>5,8,10)</sup>(図 1)。一方, RANK シグナルは c-Fos の発現も誘導する。これらのシグナルは破骨細胞の分化誘導におおの重要な役割を担っていると考えられるが, その詳細はまだ不明である。最近, 転写因子 NFATc1 (nuclear factor of activated T cell) が破骨細胞分化において重要な働きをしている可能性が報告された<sup>11)</sup>。RANKL は破骨細胞前駆細胞の NFATc1 の発現を著しく促進すること, NFATc1 を欠損した ES 細胞は, 破骨細胞への分化抑制が認められること, さらに NFATc1 を過剰発現することにより, RANKL 非存在下で破骨細胞への分化が誘導されることより, NFATc1 は破骨細胞の分化を誘導する決定的な転写因子である可能性が示された<sup>11)</sup>。

一方, 破骨細胞の分化において, RANK シグナルをさらに促進するシグナル系も報告されている。TGF-β (transforming growth factor β) は破骨細胞前駆細胞に直接作用し, RANKL が誘導する破骨細胞への分化を強く促進する<sup>12)</sup>(図 1)。ところで, SOCS (suppressors of cytokine signaling) はサイトカインシグナルの伝達因子

である JAK/STAT 蛋白に結合し, その活性化を抑制するサイトカインシグナルの阻害分子である。最近, TGF-β が破骨細胞前駆細胞の SOCS 発現を誘導すること, 破骨細胞前駆細胞に SOCS-3 を強制発現させると破骨細胞への分化がさらに促進されることが報告された<sup>13)</sup>。TGF-β は SOCS の発現誘導を介して RANK シグナルとクロストークする可能性が示唆された。一方, PGE<sub>2</sub> (prostaglandin E<sub>2</sub>) も cAMP シグナル系を介して, RANKL が誘導する破骨細胞への分化を促進することが報告された<sup>14)</sup>。破骨細胞の分化誘導に関して, RANK シグナルと cAMP-PKA (protein kinase A) シグナルのクロストークが示唆されるが, その詳細はまだ明らかではない。今後の研究で, 破骨細胞の分化を誘導する RANK シグナル機構の全容が解明されることを期待したい。

#### ● RANKL の発現を誘導するシグナル系

骨芽細胞による RANKL の発現はさまざまな因子により制御されており, その細胞内シグナル経路は, ①活性型ビタミン D<sub>3</sub> [1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]

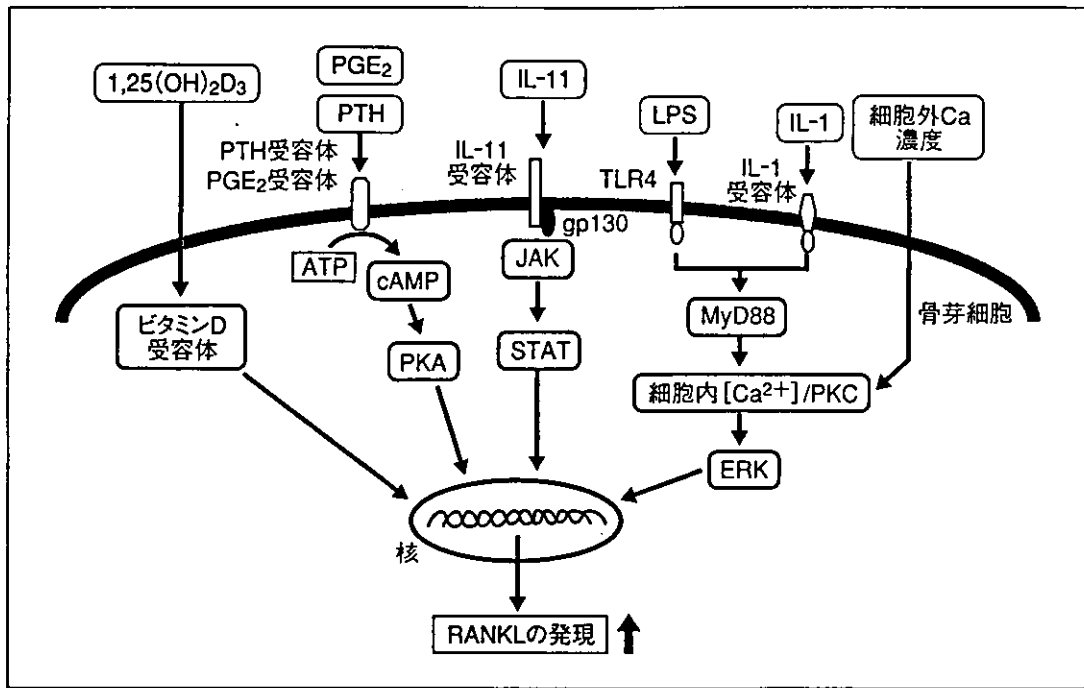


図 2 RANKL の発現を誘導するシグナル系

のシグナルを伝達するビタミン D 受容体 (VDR) 経路, ②副甲状腺ホルモン (PTH) および  $\text{PGE}_2$  のシグナルを伝達する cAMP-PKA 経路, ③IL-6 や IL-11 のシグナルを伝達する gp130/STAT3 経路で, おおのこのホルモンやサイトカインは独自のシグナル系を介して RANKL を誘導する<sup>11)</sup>(図 2)。最近, 骨芽細胞をイオノマイシンで処理したり, 細胞外 Ca 濃度を高めることで骨芽細胞の細胞内 Ca 濃度を上昇させると, RANKL の発現が誘導されることが報告された<sup>14)</sup>。一方, PKC (protein kinase C) の活性化剤である PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) で骨芽細胞を処理しても, RANKL の発現は誘導された<sup>15)</sup>。さらに, Ca-PKC シグナルは ERK の活性化を誘導すること, ERK 阻害薬 (PD98059) は Ca-PKC シグナルによる RANKL の発現誘導のみを阻害し,  $\text{PGE}_2$  と  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  が誘導する RANKL の発現を抑制しないことが示された<sup>16,17)</sup>。以上の知見は, RANKL の発現誘導に関して, VDR あるいは cAMP/PKA シグナル経路と Ca-PKC シグナル経路はクロストークしないことを示唆するものである(図 2)。

LPS 受容体 (toll-like receptor 4 : TLR4) と

IL-1 受容体 (IL-1R) は, それぞれ細胞内領域に Toll/IL-1 receptor (TIR) homology domain という相同領域をもち, ともに MyD88 をシグナル伝達分子として利用する。MyD88 の下流に TRAF6 が存在するため, TLR4 と IL-1R, LPS と IL-1 は共存培養系で破骨細胞の形成を促進し, 骨芽細胞の RANKL 発現を促進する。MyD88 ノックアウトマウスから得た骨芽細胞での解析より, LPS と IL-1 による RANKL の発現誘導は MyD88 を介するシグナル系が必須であることが示された<sup>16)</sup>。また, MyD88 シグナル系の下流で, 細胞内 Ca の上昇, PKC の活性化, ERK の活性化が順次起こり, RANKL 発現が誘導されることが示された(図 2)。以上の知見より, 骨芽細胞における RANKL 遺伝子の発現は, 少なくとも 4 つの独立したシグナル系 (VDR 系, gp130 系, cAMP/PKA 系, Ca/PKC-ERK 系) により調節されていると考えられる。

#### ● 破骨細胞の活性化を誘導するシグナル系

RANKL/RANK 系は, 破骨細胞の分化のみならず骨吸収活性 (活性化) も誘導する。一方, LPS と IL-1 もおのこの受容体を介して破骨細胞の活性化を誘導する<sup>6,18)</sup>(図 3)。RANKL は

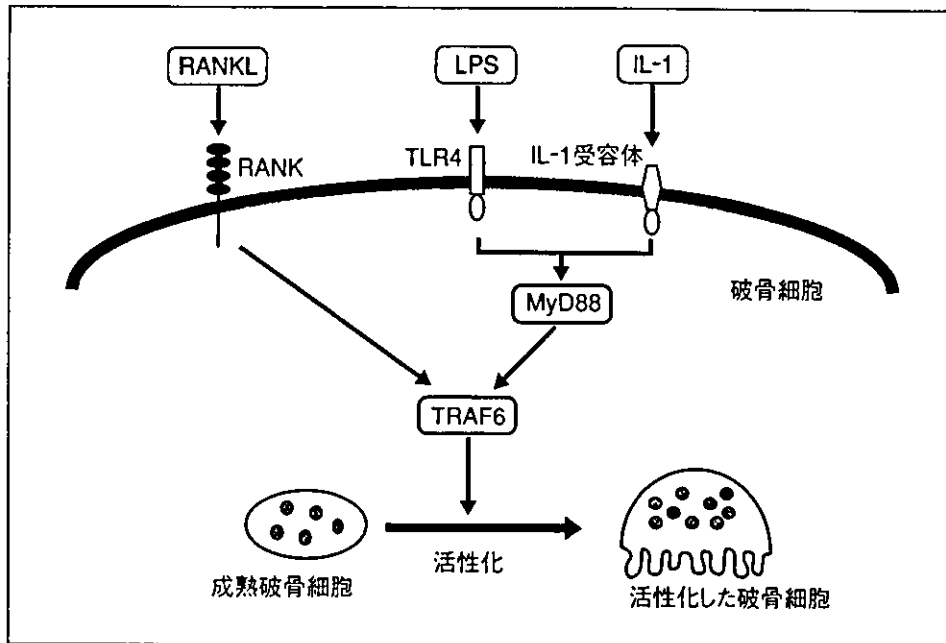


図3 破骨細胞の活性化を誘導するシグナル系

MyD88 ノックアウトマウス由来の破骨細胞を活性化するが、LPS と IL-1 はそれができないことから、LPS と IL-1 による破骨細胞の活性化には MyD88 が重要な役割を担っていることが推定される<sup>16)</sup>。RANKL と異なり、IL-1 と LPS は破骨細胞前駆細胞に直接作用して、破骨細胞への分化を誘導することはできない<sup>19)</sup>。一方、TNF- $\alpha$  は破骨細胞前駆細胞に直接作用して M-CSF の存在下で破骨細胞への分化を誘導するが、破骨細胞の活性化を誘導しない<sup>19,20)</sup>。前述したように、RANK と MyD88 の下流に TRAF6 は存在するが、TNF- $\alpha$  のシグナルは TRAF2 が担い TRAF6 は関与しない。また、TRAF6 ノックアウトマウスの破骨細胞は、波状縁の形成が認められず骨吸収能が欠落していることが報告されている<sup>21)</sup>。以上の知見より、破骨細胞の活性化は TRAF6 を介するシグナル系によって誘導されるものと考えられる (図3)。破骨細胞の分化を誘導するシグナルは最終的に転写因子 NFATc1 を誘導するものと考えられるが、破骨細胞の活性化にも NFATc1 の誘導あるいは活性化が必要か否か現時点では不明である。今後の研究で、破骨細胞の活性化を誘導する TRAF6 の下流のシグナル系が明らかにされることが期待される。

#### ● おわりに

破骨細胞分化因子および活性化因子である RANKL の発見以降、破骨細胞の分化と活性化を担うシグナル経路は驚異的な勢いで解明されつつある。これらの知見の蓄積が、骨粗鬆症など代謝性骨疾患の治療方針の確立や新規治療薬の開発に応用されることを期待したい。

#### 文献

- 1) 高橋直之, 宇田川信之, 須田立雄. 日本生化学会雑誌 1999 ; 71 : 241-53.
- 2) Yoshida H, Hayashi S, Kunisada T, Ogawa M, Nishikawa S, Okamura H, et al. Nature 1990 ; 345 : 442-4.
- 3) Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, et al. Proc Natl Acad Sci USA 1998 ; 95 : 3597-602.
- 4) Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Cell 1998 ; 93 : 165-76.
- 5) Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Nature 2003 ; 423 : 337-42.
- 6) Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, et al. J Immunol 1999 ; 163 : 434-42.
- 7) Udagawa N, Takahashi N, Yasuda H, Mizuno A, Itoh K, Ueno Y, et al. Endocrinology 2000 ; 141 : 3478-84.
- 8) Darnay BG, Haridas V, Ni J, Moore PA, Aggarwal BB. J Biol Chem 1998 ; 273 : 20551-5.
- 9) Kobayashi N, Kadono Y, Naito A, Matsumoto K, Yamamoto T, Tanaka S, et al. EMBO J 2001 ; 220 : 1271-80.
- 10) Li X, Udagawa N, Itoh K, Suda K, Murase Y, Nishi-

- hara T, et al. *Endocrinology* 2002 ; 143 : 3105-13.
- 11) Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, et al. *Dev Cell* 2003 ; 3 : 889-901.
  - 12) Kaneda T, Nojima T, Nakagawa M, Ogasawara A, Kaneko H, Sato T, et al. *J Immunol* 2000 ; 165 : 4254-63.
  - 13) Fox SW, Haque SJ, Lovibond AC, Chambers TJ. *J Immunol* 2003 ; 170 : 3679-87.
  - 14) Tintut Y, Parhami F, Tsingotjidou A, Tetradis S, Territo M, Demer LL. *J Biol Chem* 2002 ; 277 : 14221-6.
  - 15) Takami M, Suda K, Miyaura C, Takahashi N, Udagawa N, Woo JT, et al. *Endocrinology* 2000 ; 141 : 4711-9.

## suggestion

---

### 高齢者の包括的健康維持にはブレークスルーが必要

「老人医療」あるいは「老人保健」の問題を考える場合、銘記すべきことは大きく次の2つにある。

ひとつは疾病を治療するだけでなく、疾病を予防し、健康な余命を延ばすことである。これは医療全体の枠組みが二次予防から一次予防へと移行してきたことでも示されるように、「医療」にあっても一次予防としての「保健」が絶対的に重要な位置を占めていることは明白である。

いまひとつは、あらゆる健康レベルにある老人の「健康」を維持し、向上させうる手立てを常に立案し実践してゆくことである。「健康」の概念は、WHOのそれに代表されるように多義的であり、かつ抽象的である。病気（罹患率）や死亡（死亡率）に基づく健康指標は、死亡率が高く平均寿命の短い時代には有用であったかもしれないが、現在のわが国のような高齢社会あるいは（すぐにやってくるであろう）超高齢社会での重要性は低く、生命の量的問題よりもむしろ質的問題—生命の質（QOL）がより重視されるようになってきている。

したがって、老人の健康保持と向上の手立てを実践する枠組みもまた、単に疾病予防だけを座標軸とするような、いわば旧来の手法によるものではなく、「肉体的、精神的および社会的に完全に

良い状態」を目的とする新たな予防戦略が必要となっている。

老人医療の場においては、疾病を有する老年者に対する包括的老年病評価（comprehensive geriatric assessment : CGA）が提唱されて久しい。わが国においてもその普及と成果が問われている。一方、疾病の有無とはかかわりなく、地域で（在宅で）暮らす高齢者に対してもまたCGA同様の包括的な健康状態の評価と対策が必要である。すなわち、地域で比較的健康に過ごされている老年者に対する、自立の維持と向上をもたらす手立てが今後の高齢社会の主役である高齢者に向けての必須の取組みとなる。

地域における高齢者の包括的健康評価—それは具体的にいえば、健康的な自立を阻害する要因の早期発見にほかならない。よく知られているように、老人の健康を阻害するものは、疾病というよりはむしろ身体と精神の虚弱化から発来する症候群であり、「老年症候群」と呼ばれる一連の現象である。地域在宅高齢者のなかには、転倒・骨折、失禁、低栄養、生活機能の低下と閉じこもり、うつ状態、認知機能低下・ボケなどが重層的に存在し、このような老年症候群こそが著しい心身の虚弱化とともに潜在的な疾病を顕在化させ、やがて廃用症候群を経て寝たきりへと向かうことにな

- 16) Sato N, Takahashi N, Suda K, Kobayashi Y, Akira S, et al. J Bone Miner Res 2003 ; 18 : S234 (Abstract).
- 17) Kikuchi T, Matsuguchi T, Tsuboi N, Mitani A, Tanaka S, Matsuoka M, et al. J Immunol 2001 ; 166 : 3574-9.
- 18) Suda K, Woo JT, Takami M, Sexton PM, Nagai K. J Cell Physiol 2002 ; 190 : 101-8.
- 19) Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, Udagawa N, Takami M, Kotake S, et al. J Exp Med 2000 ; 191 : 275-86.
- 20) Azuma Y, Kaji K, Katogi R, Takeshita S, Kudo A. J Biol Chem 2000 ; 275 : 4858-64.
- 21) Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, Duncan GS, Furlonger C, Ho A, et al. Genes Dev 1999 ; 13 : 1015-24.

## suggestion

る。

したがって、繰り返すことになるが、地域在宅で比較的健康に過ごす高齢者（とくに70歳以上あるいは後期高齢者）に対する、老年症候群の早期発見と早期対策こそが虚弱化を抑制し、疾病の顕在化を阻止し、寝たきりを予防する最も重要な手立てであることは間違いない。

このような信念に基づき、われわれは平成13年（2001）から70歳以上の地域高齢者を対象とした「お達者健診」を開始した<sup>1-3)</sup>。わが国は疾病対策として検診システムが確立された優れた国家である。しかし、この疾病対策の検診だけでは高齢者の健康の維持・向上が望めないことは明らかである。「お達者健診」では有病率の高い慢性疾患のチェックはもちろんであるが、あくまでも主眼は転倒や失禁あるいは低栄養やボケといった老年症候群の早期発見であり、日々の生活をしてゆくうえでの体力の状況や自立の程度など、まさに高齢者が日々を「肉体的、精神的、そして社会的に満足して暮らしてゆける」ことを目的とした健診となっている。したがって、「お達者健診」では自立や生活機能に関する項目に重点を置いてスクリーニングを行った後、科学的に根拠のある転倒予防や失禁予防などのプログラムを組み、(病

院での疾病治療と同じように) 個別のあるいは集団への対応を試みている。

「お達者健診」はまだ産声をあげたばかりである。健診の呼びかけに対する参加者と非参加者には本質的なバイアスが存在することや、対費用効果など、まだまだ解決すべき点が多い。しかし、今後ますます地域で比較的健康で活力ある高齢者が増加してゆく。介護保険のお世話にもならず、しっかりと日々の生活に自立し、暮らしてゆく高齢者に対し、「お達者健診」のような安心と健康を保証していく新しい手立てと実践は、わが国の21世紀の老年医療と保健に絶対不可欠の取組みであると確信している。

### 文献

- 1) 鈴木隆雄, 岩佐一, 吉田英世, 金憲経ほか. 日本公衆衛生誌 2003 ; 50 : 39-48.
- 2) 岩佐一, 鈴木隆雄, 吉田英世, 金憲経ほか. 日本公衆衛生誌 2003 ; 50 : 950-7.
- 3) 鈴木隆雄, 岩佐一, 吉田英世, 金憲経ほか. 日本公衆衛生誌 (投稿中).

鈴木隆雄

(東京都老人総合研究所)

日本臨牀 62 卷 増刊号 2 (2004 年 2 月 28 日発行) 別刷

# 骨粗鬆症学

—基礎・臨床研究の新しいパラダイム—

## II. 骨代謝調節系

破骨細胞の機能・骨吸収メカニズム

概論：破骨細胞の分化・骨吸収調節機構

奥村茂樹<sup>1</sup> 宇田川信之<sup>1</sup> 高橋直之<sup>2</sup>

## II. 骨代謝調節系

### 破骨細胞の機能・骨吸収メカニズム

### 概論：破骨細胞の分化・骨吸収調節機構

Regulatory mechanism of osteoclast differentiation and function

奥村茂樹<sup>1</sup> 宇田川信之<sup>1</sup> 高橋直之<sup>2</sup>

**Key words** : 破骨細胞, 骨芽細胞, 骨吸収, RANKL, 極性化

#### はじめに

いったん形成された骨組織は、なぜ破骨細胞による吸収と骨芽細胞による形成を繰り返すのだろうか。一定の形態を保つかに見える骨も、骨吸収と骨形成を絶えず繰り返す動的な組織である。破骨細胞と骨芽細胞の機能バランスが崩れると、骨粗鬆症や大理石骨病などの骨疾患が引き起こされる。骨には少なくとも2つの役割がある。1つは力学的に身体を支える‘支柱’としての役割であり、もう1つはカルシウム(Ca)貯蔵庫としての役割である。骨の支柱的役割から骨疾患を考えると、破骨細胞は文字どおり‘骨を破壊する細胞’である。しかし、骨をCaの貯蔵庫として考えると、破骨細胞は血中にCaを動員する‘Ca濃度調節細胞’といえる。骨密度の低下も、血中のCa濃度の異常もともに危険である。

本稿では、この骨吸収を担う破骨細胞が、どのように形成され骨吸収能を示すのか、概略的ではあるが順を追って述べてみたい。

#### 1. 破骨細胞としての形質獲得

破骨細胞は骨組織にのみ存在し、骨吸収を担う多核細胞である。単球/マクロファージ系の破骨細胞前駆細胞が骨組織において単核の破骨

細胞に分化した後、互いに融合し、多核の破骨細胞が形成される<sup>1)</sup>。この破骨細胞の分化と機能発現は、骨形成を司る骨芽細胞により厳密に調節されている。1998年、骨芽細胞に発現し、破骨細胞の分化と機能を調節する破骨細胞分化因子RANKL(receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand)がクローニングされ<sup>2)</sup>、骨吸収調節メカニズムの一端が分子レベルで明らかにされた(図1)。すなわち、骨芽細胞は破骨細胞の分化に必要な因子であるM-CSF(macrophage colony-stimulating factor)とRANKLを発現する<sup>3)</sup>。一方、破骨細胞前駆細胞は、M-CSF受容体(c-fms)とRANKL受容体(RANK)を発現する。破骨細胞前駆細胞は、骨芽細胞との細胞間接触を介してRANKLを認識し、M-CSFの存在下で破骨細胞に分化する。また、骨芽細胞は、RANKLのデコイレセプターであるOPG(osteoprotegerin)も分泌する。OPGは、RANKLとRANKの結合を競合的に阻害する骨吸収抑制因子である。

骨芽細胞によるM-CSFの発現は恒常的であるのに対し、RANKLの発現は $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ( $1,25$ -dihydroxyvitamin  $\text{D}_3$ )、PTH(parathyroid hormone)、 $\text{PGE}_2$ (prostaglandin  $\text{E}_2$ )、IL-11(interleukin 11)などの骨吸収因子により誘導される<sup>4)</sup>。 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ はビタミンD受容体(VDR)

<sup>1</sup>Shigeki Okumura, Nobuyuki Udagawa: Department of Biochemistry, Matsumoto Dental University 松本歯科大 学生化学 <sup>2</sup>Naoyuki Takahashi: Institute for Oral Science 同総合歯科医学研究所

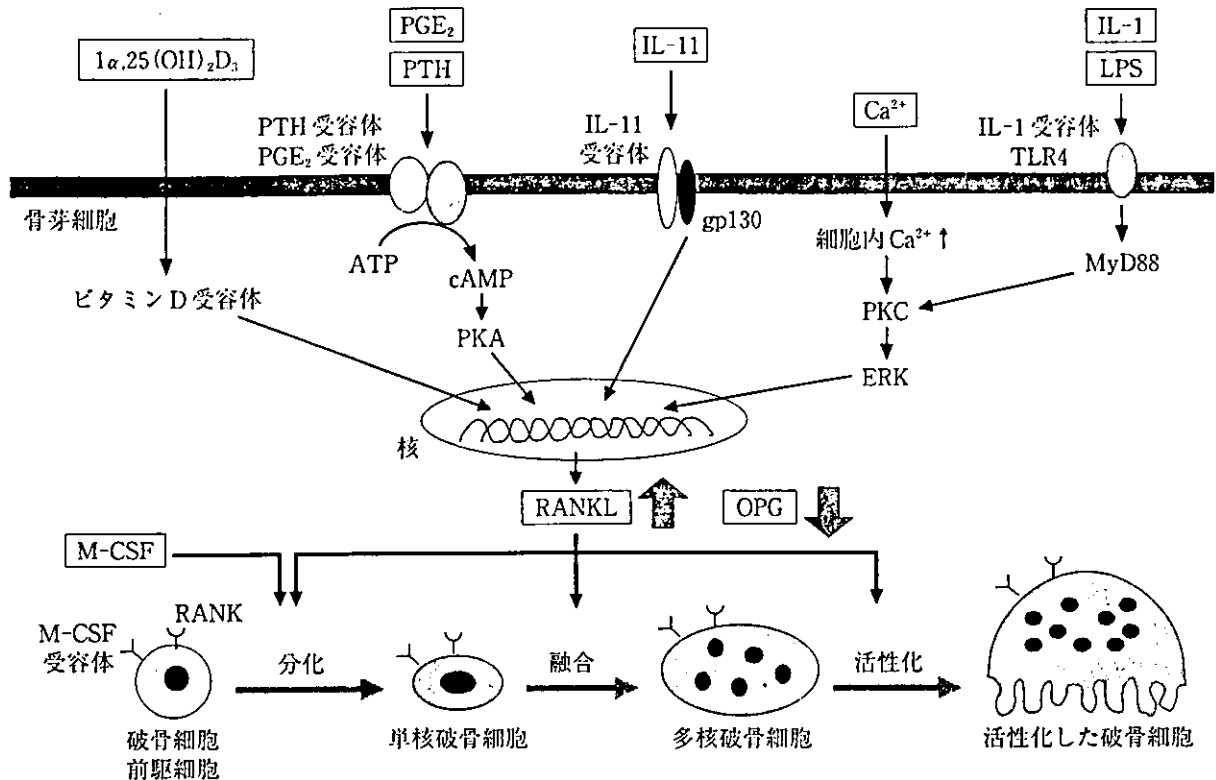


図1 骨芽細胞におけるRANKLの発現誘導とRANKLの作用

を介し、IL-11やIL-6は双方に共通のシグナル伝達因子であるgp130を介してRANKLの発現を上昇させる。また、PTHやPGE<sub>2</sub>の受容体からのシグナルは、cAMP/PKAを介してRANKL発現を上昇させると考えられる。これらの骨吸収因子は、骨芽細胞によるOPGの産生も抑制し、破骨細胞形成を促進する(図1)。更に、骨芽細胞の細胞内Caレベルが上昇するような薬物や培養液のCa<sup>2+</sup>濃度の増加はRANKLの発現を誘導する<sup>2)</sup>。この細胞内Caレベルの上昇を介するRANKLの発現誘導は、PKC(protein kinase C)とERK(extracellular signal-regulated kinase)が仲介するという結果を著者らは得ている。IL-1とLPS(リポ多糖)は骨芽細胞のRANKLの発現を誘導するが、この発現誘導はPKC/ERKを介する。一方、分化した成熟破骨細胞もRANKを発現しており、RANKLからの刺激により骨吸収活性が誘導される<sup>1)</sup>。

単球/マクロファージ系細胞は破骨細胞への分化に伴い、貪食能や抗原提示能など単球/マクロファージ特有の形質を失い、骨吸収能を獲

得する。破骨細胞のマーカー分子としてカテプシンKやカルシトニン受容体、p60<sup>c-src</sup>、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ(TRAP)などが知られている。単球/マクロファージ系前駆細胞から分化した単核破骨細胞は、骨吸収能をはじめとするこれらのマーカーをすべて発現する<sup>1)</sup>。そのため、破骨細胞分化を誘導する重要なシグナルは単核破骨細胞への分化で完結すると考えられる(図1)。

## 2. 単核破骨細胞の融合

単核破骨細胞は融合して多核細胞を形成する。破骨細胞はなぜ多核化するのか。その生理的意義は不明であるが、正常な骨吸収を行うために重要であると推測される。細胞-細胞間の膜融合は、破骨細胞の形成のみならず、ウイルス感染や受精、筋芽細胞から筋管細胞の形成時にも認められる。エキソサイトーシスやエンドサイトーシスなど、細胞内の膜融合は広く研究されているが、細胞間の膜融合機構はほとんど解明されていない。破骨細胞の研究においても、細



胞間融合機構の研究は大きく遅れている。しかし、幾つか興味深い知見も報告されているので紹介したい。

細胞間融合には、細胞膜表面の糖、コレステロールのような脂質、更に細胞外の酸性環境なども関与していると考えられている<sup>3)</sup>。倉地らは、破骨細胞間融合にマンノースが関与する可能性を指摘した<sup>4)</sup>。マウスの骨芽細胞と造血細胞の共存培養系において、マンノース残基に結合する pradimicin を培養初期(0-3日)に添加しても多核破骨細胞の形成には影響が認められないが、単核破骨細胞が融合する時期に添加すると、多核化が抑制されたという。更に、破骨細胞前駆細胞の膜表面マンノース量が、分化に伴って増大することを示し、破骨細胞の融合に細胞膜表面のマンノースが重要な役割を果たしている可能性を報告した。

また、細胞融合に関与する膜蛋白として、ADAM(a disintegrin and metalloprotease domain)が注目される。ADAMファミリーメンバーは、metalloprotease domain, disintegrin domain, cysteine-rich domain, EGF様リピートなど、多様なドメインを有する<sup>5)</sup>。これらの中で、インテグリンが結合する disintegrin domain は細胞融合にも関与する可能性が指摘されている。受精に関与する fertilin や筋芽細胞の融合に関与する分子として発見された meltrin も ADAMファミリーメンバーである。meltrin は3種類のイソフォーム( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ )がクローニングされている。このうち、 $\alpha$ と $\beta$ は骨格筋と骨にのみ発現しているという<sup>6)</sup>。破骨細胞の融合に meltrin- $\alpha$  が関与する可能性が報告された<sup>7)</sup>。興味深いことは、マンノースと meltrin- $\alpha$  は、ともに融合に必要な時期にのみ発現し、融合が終了すると発現が低下することである。実際の骨表面における細胞間融合過程は不明だが、関連分子の発現が厳密に制御されていると考えられる。

細胞運動も細胞融合を考えるうえで重要である。インテグリンは、RGD配列を認識する細胞外マトリクスの受容体で、接着と細胞運動にかかわる膜蛋白である。破骨細胞は数種類のイン

テグリンを発現している。とりわけ、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリン(ビトロネクチンレセプター)が強く発現しているため、その役割が注目される。仲村らは、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンに特異的に結合する echistatin が単核破骨細胞の融合を抑制することを報告した<sup>8)</sup>。更に、M-CSFが誘導する単核破骨細胞の運動を阻害するという。このように、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンは細胞運動を調節し、破骨細胞の細胞融合を促進するものと考えられる。一方、インテグリンが細胞融合に直接関与している可能性も指摘される。マウスの受精では、卵表面の  $\alpha_6\beta_1$ インテグリンと精子の fertilin- $\beta$  が結合し、細胞融合が起こる<sup>9)</sup>。ADAMファミリーメンバーとインテグリンによる異分子間相互作用は、破骨細胞の融合にも関与しているかもしれない(図2)。

単核破骨細胞の融合を直接促進する因子として、RANKL, M-CSF, IL-1, TNF $\alpha$ , LPS があげられる。転写因子 NFAT2(NFATc1)が破骨細胞の分化を誘導することが報告され、その役割が注目されている<sup>9,10)</sup>。Ishidaらは、破骨細胞に分化する初期に上昇する遺伝子としてNFAT2を見いだした<sup>9)</sup>。NFAT2の活性化を阻害する薬物サイクロスポリンAは、RANKLが誘導するRAW264細胞の単核破骨細胞の出現は抑制しないが多核破骨細胞の出現を抑制したという。更に、NFAT2の antisense をRAW264細胞に発現させると、RANKL誘導性のTRAP-陽性単核細胞の出現は抑制されないが、多核化が抑制されることを報告した。最近、NFAT1(NFATc2)は、IL-4の産生の促進を介して筋芽細胞の融合を促進することが報告された<sup>11)</sup>。このように、NFATが破骨細胞の融合過程を調節している可能性も示唆される。

### 3. 活性化による骨吸収能獲得

このようにして多核化した破骨細胞は、どのように骨吸収活性を発現するのだろうか。骨吸収を行っている破骨細胞は、骨表面に明帯(clear zone)と波状縁(ruffled border)を形成し、細胞極性を示す(図3)。破骨細胞は、波状縁よりプロトン(H<sup>+</sup>)と塩素イオン(Cl<sup>-</sup>)を骨面に放

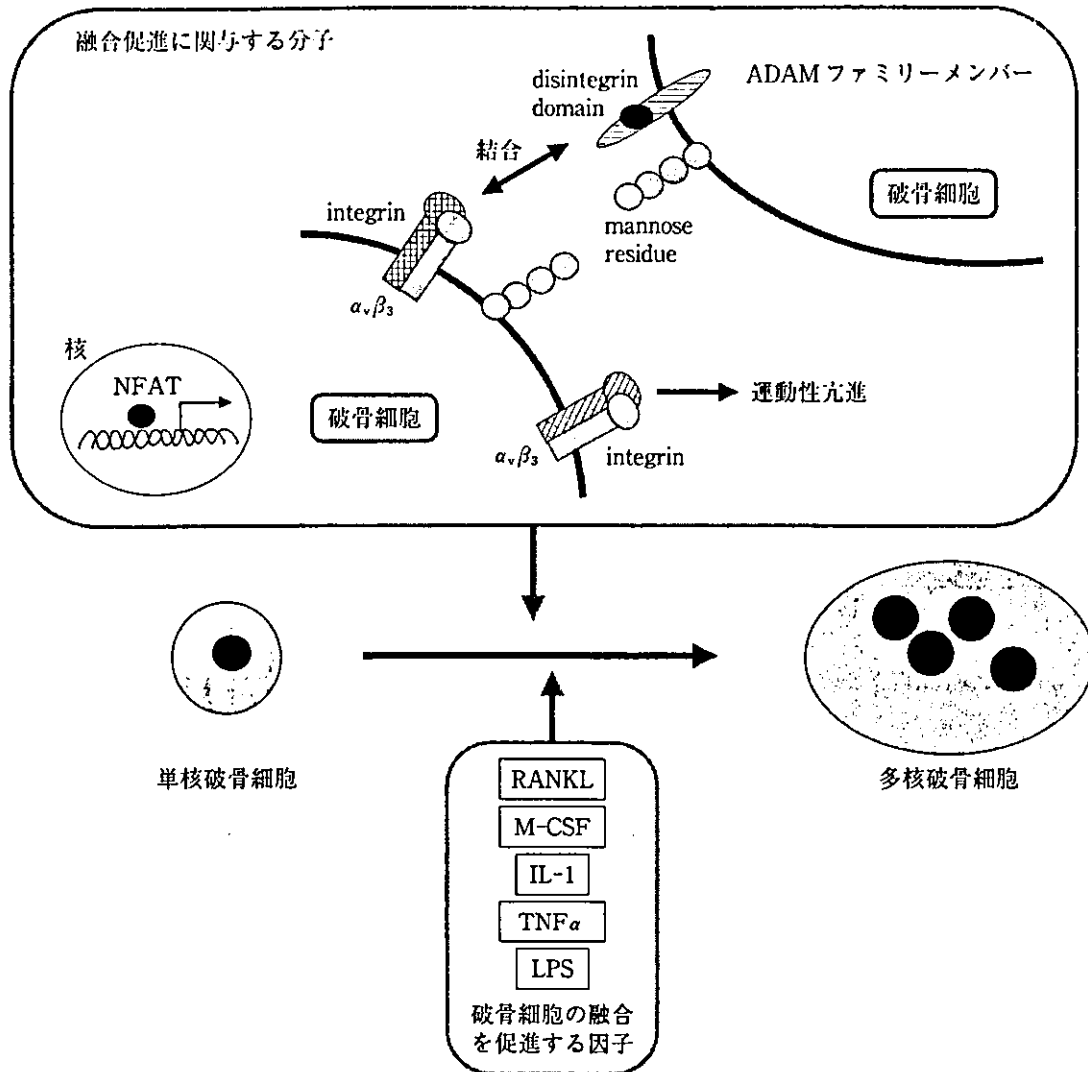


図2 破骨細胞の融合を促進する因子と融合促進に関与する分子

出し、ヒドロキシアパタイト結晶を脱灰する。そのため、波状縁にはV-ATPase(液胞型プロトン-ATPase)とClチャンネルが集積している(図4)。また、波状縁からカテプシンKなどの蛋白分解酵素も分泌され、骨基質蛋白の分解も促される。

このような骨吸収を開始するには、少なくとも2つのシグナル系が同時に作動する必要があると考えられる。接着装置ポドソームを介するシグナルとTRAF6(TNF receptor associated factor 6)を介するシグナルである(図3)。破骨細胞は、 $\alpha_v\beta_3$ インテグリンを介して骨基質に接着する。接着により、Pyk2(prolin-rich tyrosine kinase 2(focal adhesion kinaseのホモロ

グ)), p130<sup>cas</sup>, p60<sup>src</sup>などが接着点にリクルートされ、接着シグナル複合体が形成される<sup>12,13)</sup>。骨に接着したというシグナルは、この複合体を介し、波状縁形成誘導シグナルを細胞内に伝達する<sup>12,13)</sup>。

しかし、純化した破骨細胞は、骨基質に接着させても骨吸収能を発現しないため、他のシグナルも必要であることがわかる。様々なサイトカインを検索したところ、RANKL, IL-1, LPSが、純化した破骨細胞の骨吸収(波状縁形成)を誘導することが示されている<sup>11,13)</sup>。RANK, IL-1受容体, Toll-様受容体4(TLR4, LPS受容体)は、TRAF6を共通のシグナル伝達分子として利用することから、破骨細胞の波状縁形成には

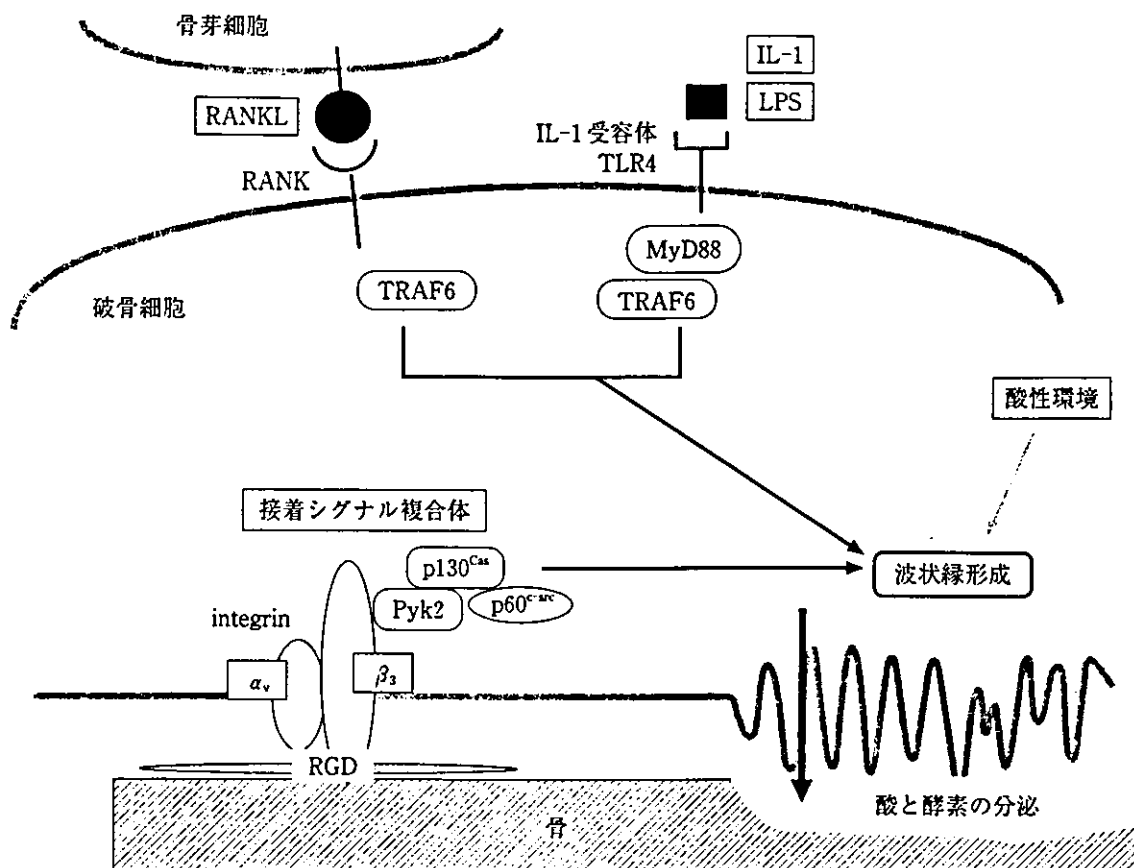


図3 波状縁形成を誘導するシグナル系

TRAF6を介するシグナルも必要と考えられる<sup>1)</sup>。

更に、骨吸収を促進する要因として、酸性環境があげられる。酸性環境は、破骨細胞の carbonic anhydrase II の mRNA の発現<sup>14)</sup>やポドソーム形成を促進し<sup>15)</sup>、V-ATPase の活性を亢進させることが報告されている。実際、酸性環境にすると吸収窩形成能が著しく増加する<sup>16)</sup>。一方、V-ATPase は Triton x-100 などの界面活性剤による可溶化に抵抗性を示し、不溶性分画に残ることから、細胞骨格によって運ばれる可能性が示唆される<sup>17)</sup>。破骨細胞に特異的に認められる V-ATPase の  $\alpha_3$  サブユニットに対する特異抗体を用いて免疫染色すると、微小管の染色像と一致する<sup>18)</sup>。V-ATPase の特異的阻害剤である bafilomycin A で破骨細胞を処理すると、酸分泌のみでなく波状縁の形成も抑制されるため、V-ATPase 活性自体が、破骨細胞の極性化に関与すると考えられる<sup>19)</sup>。 $\alpha_3$  サブユニットに異常をもつ大理石骨病マウス (oc/oc マウス) の

破骨細胞では、骨表面側への V-ATPase の集積が認められず、波状縁形成も認められない<sup>17)</sup>。このように酸分泌と波状縁形成は密接につながっているものと推察される。

#### 4. 極性化した破骨細胞の機能

Väänänen らは、骨吸収を行っている破骨細胞の機能と構造を解析し、興味ある所見を報告した<sup>20,21)</sup>。破骨細胞は、消化した蛋白を吸収小胞 (transcytotic vesicle) を形成して波状縁領域から取り込み、細胞内移送 (トランスサイトosis) を経て apical 領域から分泌しているという。彼らは、この apical 領域を functional secretory domain (機能的分泌領域: FSD) と名付けている。FSD には、ある種のウイルス蛋白が特異的に輸送されること、また吸収小胞が FSD に集積することから、他の膜領域と異なる膜構造をもつという<sup>20,21)</sup>。したがって、骨吸収を行っている破骨細胞の細胞膜は、機能的にも異な

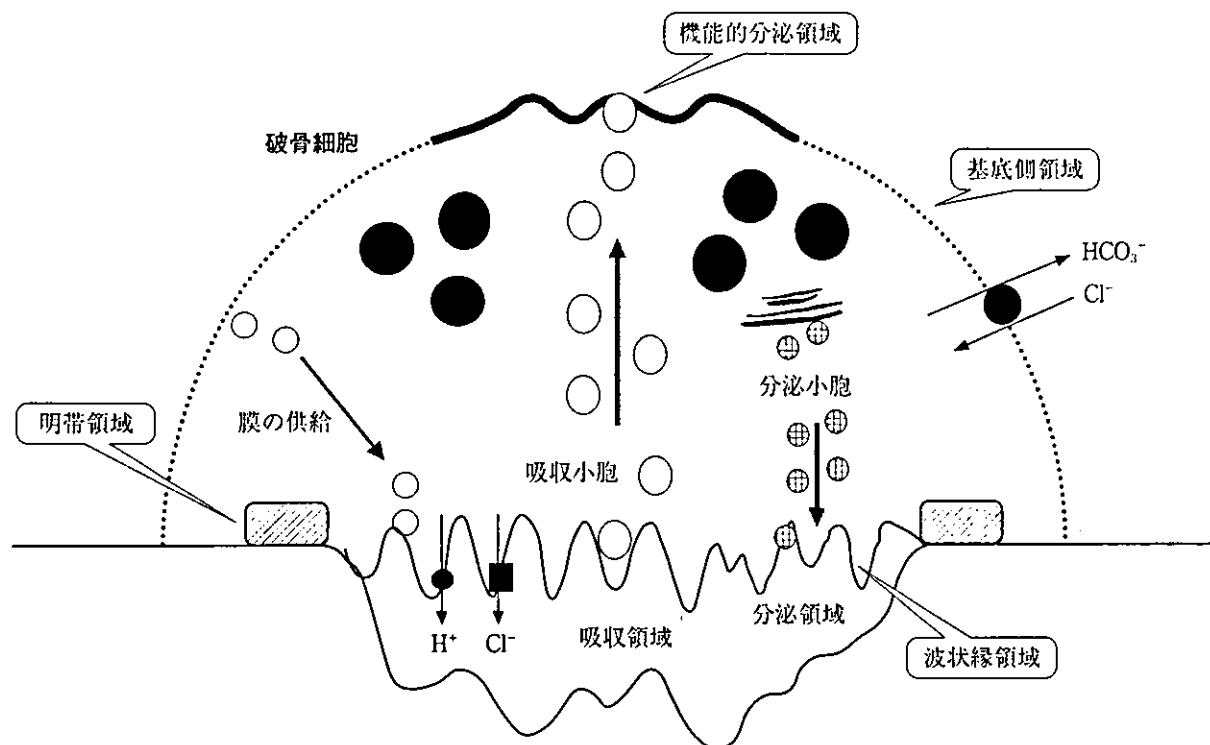


図4 骨吸収を行っている破骨細胞のもつ4つの異なる膜領域とその役割

る4つの膜領域(①波状縁領域(ruffled border domain), ②明帯領域(clear zone domain), ③基底側領域(basolateral domain), ④機能的分泌領域(FSD))に分けられる(図4)。

波状縁領域は、吸収窩に面する部位に形成される複雑に入り組んだ膜ドメインで、酸や蛋白分解酵素を分泌するとともに消化した蛋白を吸収する。そのため、波状縁領域は更に分泌領域と吸収領域に分離されるという<sup>21)</sup>。

明帯領域の実体は、F-アクチンのドット(ポドソーム)がリング状に集合したものである。その機能は、接着シグナルの伝達と特定の膜環境を保持するフェンス的役割と考えられる。

基底側領域の機能は不明であるが、この部位に $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  exchangerが存在し、持続的な酸の分泌を可能にするのであろう。また、エンドサイトーシスされるトランスフェリンレセプターの解析より、基底側領域の一部の膜は、波状縁領域に使われる可能性も指摘されている<sup>20,21)</sup>。このように骨吸収を行っている破骨細胞は高度に極性化した細胞である。破骨細胞の骨吸収機能は、それぞれの膜領域が独自の機能を果たす

ことで維持されるのであろう。

#### おわりに

以上、足早にはであったが、破骨細胞の分化から骨吸収まで順を追って見てきた。この数年の間に、破骨細胞分化と機能発現の調節機構の解明は、大きく進歩した。しかし、①RANKL, OPG, M-CSFの局在のみが、破骨細胞の形成する部位を決定するのか、②破骨細胞の分化を決定する細胞内シグナルは何か、③破骨細胞はなぜ多核化するのか、また関与する分子は何か、④破骨細胞は骨をどのように認識して骨面に波状縁を形成するのか、⑤骨吸収に関与する酸や酵素は、どのように波状縁に運ばれるか、⑥破骨細胞はどのようなシグナルを受けて骨吸収を停止するのか、⑦破骨細胞のアポトーシスはどのように調節されているのかなど、多くの問題が未解決である。今後の研究により、これらの疑問が解明され、骨粗鬆症をはじめとする骨代謝疾患の治療に貢献すると確信する。