
 話 題

破骨細胞に関する最近のトピックス

京都大学医学部整形外科科学教室 中 村 孝 志

骨は体の構造を形作り、維持する働きをしている。骨は有機成分と無機成分からなり、有機成分の 90% が I 型コラーゲンからできている。残り 10% は様々な蛋白を含んでおり非コラーゲン蛋白と総称されている。無機成分はカルシウムとリン酸からなり、主には炭酸を含有する水酸化アパタイトからできている。骨組織の研究は骨が石灰化しているために、蛋白の抽出には脱灰が必要で、また、非コラーゲン蛋白質の多くがコラーゲンと強固に結合しているために、可溶化しにくく生化学的な解析には手間取ってきた。しかし、最近では分子生物学的手法が広く用いられ、骨代謝は新しい展開をしめしている。今回の話題では骨の吸収に関与している破骨細胞について最近の話題を述べてみたい。破骨細胞は形態的には多核で骨に接した面に Ruffled Border を形成しその周囲に Clear zone といわれる骨基質と膜が接着した部分を取り囲んでいる。カルシトニンレセプターをもち、酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ染色で特異的に染色される。破骨細胞の研究は破骨細胞が分化誘導される機構と骨吸収機構の 2 つの面から解析が進められている。破骨細胞の発生については破骨細胞の機能障害を持つ osteopetrosis のモデルマウス op/op マウスを用いて行われた。イギリスの Walker ら¹⁾ が健常なマウスとの Parabiosis を作成すると、op/op マウスに健常マウス由来の破骨細胞が生じて Osteopetrosis が治癒する事を示し、破骨細胞が血液系の細胞に由来することを示した。その後、op/op マウスが M-CSF の投与で osteopetrosis が改善することが報告され、さらに、Yoshida ら²⁾ により M-CSF の遺伝子に Point mutation があり、M-CSF が産生されないために破骨細胞の誘導が起らず、欠損していることがしめされた。一方、培養系の研究では、in vitro で破骨細胞を誘導する優れた方法が、昭和歯科大学の高橋ら³⁾ により開発された。その方法は骨芽細胞と脾臓細胞を 1,25(OH)₂D₃ の存在下で共存培養するもので、1 週間で多核の破骨細胞の性質を持ち、デンチンスライスや骨片上で吸収窩を示す細胞が分化してくる。破骨細胞は脾細胞から分化してくるが、骨芽細胞との cell-cell contact が不可欠であることがわかっている。骨芽細胞は calvaria から採りだした骨芽細胞でも、骨髄より採取した Bone marrow stromal cell でもよく、また ST2 細胞などの株化細胞でも可能である。しかし、骨芽細胞株として一般に使用されている MC3T 3E1 細胞は誘導能を示さない。この系を用いて様々なサイトカインや薬物の破骨細胞誘導への効果や骨吸収能の影響が研究されている。また、明海大学歯学部の高橋らにより、95% 以上の純度で大量の破骨細胞を採取する方法が開発され、破骨細胞の生化学的な分析がなされている⁴⁾。彼らは Osteopontin と呼ばれる、骨マトリックスに含まれ骨芽細胞が特異的に造り出しているといわれていた蛋白を破骨細胞自身も産生していることをしめしている。Osteopontin は RGD モチーフを持ち、細胞と骨基質の接着に働いていると考えられている⁵⁾。破骨細胞が骨に接着するには Osteopontin と細胞膜の In-

TAKASHI NAKAMURA: Recent Progress of the Investigation of Osteoclast

Professor of Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University.

Key words: Bone Resorption, Osteoclast, Osteopontin, c-fos, c-src

索引用語: 骨吸収, 破骨細胞, オステオポンチン, c-fos, c-src

tegrin $\alpha_v\beta_3$ との結合が必要である⁶⁾。骨芽細胞だけでなく、破骨細胞自身も Osteopontin を作り、接着に関与していると思われる。Ruffled border の部分で骨基質蛋白を分解するために蛋白分解酵素が働いているが、新しい蛋白分解酵素が破骨細胞の c-DNA からクローニングされている⁷⁾。clear zone と ruffled border に取り囲まれた部分では pH が3まで低下しているが、この部分で Carbonic anhydrase II が働き H^+ を作り、膜の Proton pump が細胞外へ送り出すことが明らかにされ、それらの酵素がクローニングされている。

最近の破骨細胞の解析で最も興味深い発見は2つの癌遺伝子のノックアウトマウスで osteopetrosis が生じることの発見がある。その1つは c-fos で、この遺伝子のノックアウトマウスで Osteopetrosis を生じてくることが見つかった⁸⁾。破骨細胞の誘導には血液系の細胞と骨芽細胞系の細胞が必要だが、c-fos のノックアウトマウスでは血液系の細胞に異常があるために、破骨細胞が生じてこないことが示され、破骨細胞の分化には c-fos が重要な働きをしていることが判明した。v-fos 遺伝子はマウスに骨肉腫を発生させる FBJ 骨肉腫ウイルスに見いだされた。その原がん遺伝子が c-fos である。c-fos のトランススジェニックマウスでは骨肉腫と軟骨肉腫が生じることが知られている。

もう一つは c-src 遺伝子である。c-src のノックアウトマウスでは、もともと高い発現が見られていた血小板や脳では形態的な異常が見られず、唯一骨に Osteopetrosis がみとめられた⁹⁾。このマウスでは破骨細胞は観察されたが、骨吸収の機能がなく、特に骨を吸収する Ruffled border が形成されていなかった。破骨細胞は骨を吸収するには骨に接着し、Clear zone と Ruffled border を形成する必要がある、そのためには基質と細胞の接着と破骨細胞の細胞骨格の再構成を必要とする。c-src がこの機能に重要な働きをしていることが推測される。これら分子生物学的手法により今まで予想もしていなかった破骨細胞研究の進歩は骨粗鬆症をはじめとして、骨代謝疾患の新しい治療法の開発につながるものと期待される。

文 献

- 1) Walker DG: Experimental Osteopetrosis. Clin Orthop Rel Res. 97: 158-174, 1973.
- 2) Yoshida H, Hayashi SI, Kunisada N, et al: The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene, Nature 345 442-444, 1990.
- 3) Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, et al: Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. Endocrinology, 123: 2600-2602, 1988.
- 4) Tezuka KI, Sato T, Kamioka H, et al: Identification of osteopontin in isolated rabbit osteoclasts. Biochem. Biophys. Res. Commun. 186: 911-917, 1992.
- 5) Ross FP, Chappel J, Alvarez JI, et al: Interaction between the bone matrix proteins osteopontin and bone sialoprotein and the osteoclast integrin $\alpha_v\beta_3$ potentiate bone resorption, J Biol Chem 268, 9901-9907.
- 6) Tezuka KI, Tezuka Y, Maejima I, et al: Molecular Cloning of a Possible Expressed in Osteoclasts Cysteine Proteinase Predominantly, J Biol Chem 269: 1106-1109, 1994.
- 7) Grigoriadis AE, Wang ZQ, Cecchini MG, et al: c-Fos; a key regulator of osteoclast-macrophage lineage determination and bone remodeling. Science 266: 443-448, 1994.
- 8) Soriano P, Montgomery C, Geske R, et al: Targeted disruption of the c-src Proto-Ocogene Leads to Osteopetrosis in Mice. Cell. 64: 693-702, 1991.
- 9) Boyce BF, Yoneda Y, Lowe C, et al: Requirement of pp60^{c-src} expression of osteoclasts to form ruffled border and resorb bone. J. Clin. Invest. 90: 1622-1627, 1992.