



Title	骨形成におけるRab32/38の役割の解析
Author(s)	加藤, 裕美子
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105332
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 （加藤裕美子）	
論文題名	骨形成におけるRab32/38の役割の解析
論文内容の要旨 【背景】 骨は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成による骨リモデリングを繰り返している。破骨細胞は波状縁（<i>ruffled border</i>）から酸やプロテアーゼを分泌することで骨基質を分解し、一方、骨芽細胞は骨基質を産生・分泌し、その石灰化を促進する。破骨細胞と骨芽細胞間の相互作用は骨リモデリング制御において重要であり、その破綻は歯周病や骨粗鬆症などの疾患へとつながる。 Rabタンパク質は約60種類のメンバーからなる低分子量GTPaseで、細胞内の小胞輸送を制御している。それぞれのRabタンパク質は異なる局在を示し、異なる輸送機構に参与する。 Rabタンパク質の中でRab38は破骨細胞分化の過程で発現が上昇し、そのパラログであるRab32と共に、リソソーム様オルガネラ（<i>lysosome-related organelles</i>, LRO）の機能に参与している（Noda et al., 2023）。LROはリソソームと同様に内部のpHが低くリソソーム膜タンパク質と局在するなどの性質を有するが、加えて細胞特異的な機能を持つオルガネラである。例えば色素細胞では、メラノソームはリソソーム様の性質を持つ一方でメラニン色素を貯蔵・合成する機能を持つLROである。Rab32/38はメラノソームへのメラニン色素合成酵素の輸送に関わることが報告されている。Rab32/38ダブルノックアウト（DKO）マウスでは骨密度が高く、Rab32/38陽性LROが酸やプロテアーゼの分泌に参与し、破骨細胞の骨吸収能が低下した結果であると考えられた（Tokuda et al., 2023）。 破骨細胞が持つ機能は骨吸収のみではなく、骨芽細胞に対してカップリング因子を産生、分泌し骨形成へ参与する。本研究では、Rab32/38が骨リモデリングや骨形成に与える影響を検討した。 【材料および方法】 8週齢雄の野生型（WT）C57BL/6マウスあるいはRab32/38二重欠損（DKO）マウスの大腿骨を採取し骨形態解析を行った。4日齢雄の野生型マウスの頭蓋冠から間葉系幹細胞（MSC）を採取し、更に8週齢雄のWTあるいはDKOマウスの大腿骨、脛骨、腓骨から骨髓細胞を採取し、M-CSFを培地に添加することでマクロファージに誘導し、骨髓由来マクロファージ（BMM）を得た。破骨細胞が骨芽細胞分化へ与える影響を調べるため、WTのMSCとWTあるいはRab32/38 DKO由	

来BMMを同一ディッシュで培養した。破骨細胞・骨芽細胞への分化因子を添加し、共培養を行い、それぞれの細胞の分化マーカーのmRNA発現量を調べた。また、WTあるいはDKOマウス由来の破骨細胞を培養し、骨芽細胞の分化に関与する分子の量的変化や細胞内局在を調べた。

【結果および考察】

骨形態解析の結果、32/38 DKOマウスでは野生型と比較し、骨芽細胞数が増加していた。Rab32/38 DKOマウスの骨密度増加の原因は骨吸収が低下していることに加え骨形成が亢進しているためであると考えられた。破骨細胞と骨芽細胞の共培養の結果、これまでの報告の通り破骨細胞の分化マーカーmRNA発現に差はない一方で、骨芽細胞分化マーカーはRab32/38 DKO由来破骨細胞の存在下で増加傾向を呈した。以上より、Rab32/38 DKO破骨細胞は野生型の破骨細胞に比較し、骨芽細胞分化に促進的に影響することが示された。

Semaphorin 4D (Sema4D) は、破骨細胞で細胞膜へ輸送され、ADAM17によって切断される。切断型は胞膜タンパク質として残り、分泌型は破骨細胞から分泌され、全長型または分泌型のN末端が骨芽細胞の膜上のPlexinB1と結合し骨芽細胞分化を抑制する。野生型とDKO破骨細胞でSema4Dタンパク質量を比較すると、DKO破骨細胞では切断型が減少し、培養上清中の分泌型の濃度が低下していた。さらにRab32欠損細胞におけるSema4D局在解析の結果、Rab32/38が破骨細胞内でのSema4D輸送機構に関与し、その分泌量を制御している可能性が示唆された。以上より、Rab32/38は破骨細胞におけるSema4Dの細胞内の動態に関与し、Sema4D分泌に影響し、骨芽細胞分化や骨形成に影響するという機構が考えられた。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (加藤裕美子)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	野田 健司
	副 査	教 授	大庭 伸介
	副 査	准教授	黒坂 寛
	副 査	講 師	大嶋 淳
論文審査の結果の要旨			
加藤裕美子氏は <i>Rab32 Rab38</i> 二重欠損マウスを骨形態計測で解析することにより、その骨量増加の要因として、破骨細胞機能の減弱化という既報の知見に加えて、骨芽細胞数が増加していることを見出した。<i>Rab32 Rab38</i> 二重欠損マウス由来の破骨細胞・骨芽細胞共培養実験により、破骨細胞における <i>Rab32 Rab38</i> 欠損が骨芽細胞分化に影響する可能性を示した。破骨細胞に発現し骨芽細胞に影響する Semaphorin4D に着目し、その切断型の細胞外への分泌が <i>Rab32 Rab38</i> 欠損により減少することを示した。破骨細胞内で細胞膜へ輸送された Semaphorin4D は、エンドサイトーシスされ <i>Rab32 Rab38</i> 陽性のリソソーム様オルガネラ内に取り込まれることを示した。このことは Semaphorin4D を介した骨組織における細胞間コミュニケーションの制御機構の理解において新しい展開をもたらす可能性がある。 よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。			