The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Bone Morphogenetic Proteins in Bone Stimulate Osteoclasts and Osteoblasts During Bone Development
Author(s)	岡本, 美奈
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47355
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、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

【121】

氏　　名	岡　本　美　奈（おかもと みな）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２１４２５　号
学位授与年月日	平成 19 年３月 23 日
学位授与の要件	学位規則第４条第２項該当
学　位　論　文　名	Bone Morphogenetic Proteins in Bone Stimulate Osteoclasts and Osteoblasts During Bone Development （骨形成因子（BMP）は骨の形成過程において破骨細胞と骨芽細胞を刺激する）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉川　秀樹 （副査） 教　授　大薗　恵一　　教　授　仲野　　徹

論　文　内　容　の　要　旨

【　目　的　】

骨形成因子（BMP）は異所性骨化を誘導する物質であり、骨の形成過程において重要な役割を果たしている。骨の成長には、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の相互作用が重要である。破骨細胞は、骨芽細胞の支持の下に破骨細胞前駆細胞である造血系の単球/マクロファージが分化して形成される。その支持作用は骨芽細胞が発現する Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand（Rankl）によって担われている。これまで BMP は主に骨芽細胞に対する作用が調べられ、BMP が骨芽細胞の分化を促進し、生後の骨質の維持に重要な役割を果たしていることが広く知られている。一方で、BMP が骨芽細胞を介して破骨細胞を制御しうることや、破骨細胞前駆細胞や成熟破骨細胞に BMP レセプターが存在し、BMP が培養破骨細胞を直接刺激するとの報告が散見される。しかし、生体での破骨細胞に対する BMP の作用や、骨の発生、成長過程における BMP の役割については、未だ明らかにされていない。そこで本研究では、骨特異的に BMP シグナルを活性化あるいは不活化したトランスジェニックマウスを作成し、BMP の骨組織における作用を骨形成と骨吸収の両面から検討した。

【　方　法　】

BMP のアンタゴニストである Noggin は BMP2、4、7 に特異的に結合することにより、その作用を細胞外で阻害する。骨組織特異的発現をもたらす I 型コラーゲンα1 鎖遺伝子（*Col1a1*）プロモーターに Noggin cDNA 或いは BMP4 cDNA を結合し、DNA コンストラクトを用意した。これらを導入したトランスジェニックマウス（*Col1a1-Noggin*）及び（*Col1a1-Bmp4*）を作製し、Wild-type マウスと比較して解析した。

【　成　績　】

Col1a1-Noggin トランスジェニックマウスの約 60%で骨折が見られた。各組織から抽出した RNA を用いて Noggin の発現を real-time RT-PCR で解析したところ、トランスジーンは骨組織に発現していた。マイクロ CT と組織学的解析により、このマウスでは胎児期後期から生後早期にかけて骨量が増加し、破骨細胞数が減少していることが判明した。３週齢マウスの骨形態計測では、骨芽細胞性骨形成速度は低下し、骨芽細胞数は増加していた。これは、骨芽細胞の機能が低下していることを示す。また、破骨細胞数と骨吸収面共に顕著な減少がみられた。骨幹部では皮質骨が厚く、髄腔がほとんど見られなかった。骨幹部の骨膜での骨形成低下による直径の減少と、骨内膜での骨吸収能の

低下による幼弱な骨組織の髄腔内残存により、*Col1a1-Noggin* マウスの骨は骨量は多いものの、機械的には脆弱だと考えた。さらに、破骨細胞形成能における BMP の役割を調べるため、骨芽細胞と脾臓細胞の共存培養を行った。*Col1a1-Noggin* マウス頭蓋骨由来の骨芽細胞と WT 由来の脾臓細胞を用いた共存培養で分化誘導される破骨細胞の数は、WT 由来の骨芽細胞と WT 由来の脾臓細胞から分化誘導される破骨細胞数に比べ、著明に低下していた。この低下は recombinant human BMP2（rhBMP2）の添加により回復したことから、*Col1a1-Noggin* マウスにおける破骨細胞数の減少は骨組織での BMP シグナルの低下によるものと考えた。この BMP シグナルによる破骨細胞形成制御のしくみを知るために、頭蓋骨由来の骨芽細胞に種々の濃度の rhBMP2 を添加して培養を行ったところ、Rankl の発現量に著明な変化を認めなかった。これは、共存培養において BMP 刺激による破骨細胞数の増加が、骨芽細胞を介していない可能性を示唆する。そこで破骨細胞前駆細胞である骨髄マクロファージを培養し、BMP シグナルの細胞内伝達物質である Smad のリン酸化を調べた。rhBMP2 の添加によって、Smad 1/5/8 のリン酸化レベルが上昇し、破骨細胞前駆細胞は BMP 刺激に直接反応することが判明した。一方、*Col1a1-Bmp4* トランスジェニックマウスでは破骨細胞数は顕著に増加し、骨量が減少していた。これは、*Col1a1-Noggin* マウスの結果と整合する。以上の結果から BMP は骨芽細胞だけでなく、破骨細胞系細胞にも直接作用し、骨形成と骨吸収の両方を促進して、成熟した強い骨を作る働きがあると考えた。

【　総　括　】

生体の骨組織において BMP は、骨芽細胞による骨形成の促進だけでなく、破骨細胞性骨吸収を刺激することによって骨の形成と吸収の相互作用を調節し、骨の成長、質、強度を制御している。

論文審査の結果の要旨

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の相互作用が重要である。骨形成因子（BMP）は、骨芽細胞の分化、機能を促進することが知られている。本研究では、骨組織における破骨細胞の機能を含めた BMP の役割を調べるため、BMP シグナルを活性化あるいは不活性化したマウスを作成し、解析を行った。BMP シグナルを不活性化したマウスでは、骨芽細胞の数は増加するものの、機能は低下しており、さらに骨吸収能も低下していた。一方、BMP シグナルを活性化させたマウスでは、骨量が減少し、破骨細胞数が増加していた。つまり、BMP シグナルを不活性化したマウスの結果と一致した。以上から、BMP は骨芽細胞の機能を促進すると同時に、破骨細胞の形成も促進していることが明らかになった。また、頭蓋骨由来の骨芽細胞と脾臓細胞の共存培養によって破骨細胞を誘導した。その結果、BMP シグナルを不活性化させたマウスの骨芽細胞を用いた場合、正常マウスの骨芽細胞を用いた場合と比較して破骨細胞形成能は低下していたが、rhBMP2 の添加によって回復した。さらに、破骨細胞前駆細胞における BMP シグナルの細胞内伝達物質（Smad）のリン酸化を調べたところ、rhBMP2 の添加によって Smad のリン酸化レベルが上昇した。この事は、BMP が破骨細胞前駆物質に直接作用する可能性を示す。また、BMP シグナルを抑制したマウスでは骨が幼弱であるため骨折が多くみられたが、これは骨におけるリモデリングが抑制されているためと考えた。BMP の骨組織における機能は、骨芽細胞の分化だけでなく、破骨細胞形成も刺激して骨リモデリングを促進し、骨質を向上させる事だと考える。

以上の研究は、論文博士学位の授与に値すると考えられる。