

炎症性骨破壊疾患の新規治療法の構築に関する基礎的研究

森田あや美 (医療生命薬学生命ユニット)

【背景】 歯周疾患および慢性関節リウマチ等の炎症状態に伴う骨吸収は、深刻な問題である。炎症状態における骨芽細胞、および破骨細胞の応答ならびにそのメカニズムについて解析することは、基礎的研究だけでなく臨床においても重要な知見であると考えられる。

骨代謝は、骨の形成および吸収を日々繰り返しており、骨代謝において骨芽細胞および破骨細胞が、骨形成および骨吸収の重要な役割を担っている。骨芽細胞は、間葉系幹細胞から分化した骨形成細胞であり、骨基質であるオステオカルシン(OSCAL)、オステオポンチン、I型コラーゲンなどを産生し、骨形成に寄与している。一方、破骨細胞は単球・マクロファージ系の前駆細胞が分化した多核細胞であり、receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) などの刺激により破骨細胞分化誘導および骨吸収が促進される。また、炎症性サイトカインである interleukin (IL)-1 β が骨芽細胞の細胞増殖を促進すること、破骨細胞形成および骨吸収を促進すること、ならびに骨芽細胞分化マーカーであるオステオカル

シンおよびアルカリフォスファターゼ (ALP) の発現抑制することが報告されている。

近年、胚発生とガンに関連するタンパク質ネットワークであるWntシグナル系と骨代謝の関連性について報告されている。骨芽細胞から分泌されるWnt5aが破骨細胞前駆細胞のRor2に結合すると、この細胞におけるRANKの発現が上昇し、骨芽細胞系細胞から分泌されるRANKLの刺激により破骨細胞へと分化することが報告されている。また、関節リウマチの滑膜細胞はWnt5aを強く発現しており、Wnt5aデコイレセプターを投与した関節炎モデルマウスの関節では、破骨細胞数が有意に減少したと報告されている。

これらの知見より、Wntシグナル系と骨代謝は密接な関連性があると考えられる。そこで本研究において、ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 (MG-63 細胞) およびヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞様細胞 (h-SMSC-OB 細胞) を用い、Wntシグナル系と骨芽細胞増殖および分化との関連性について検討した。

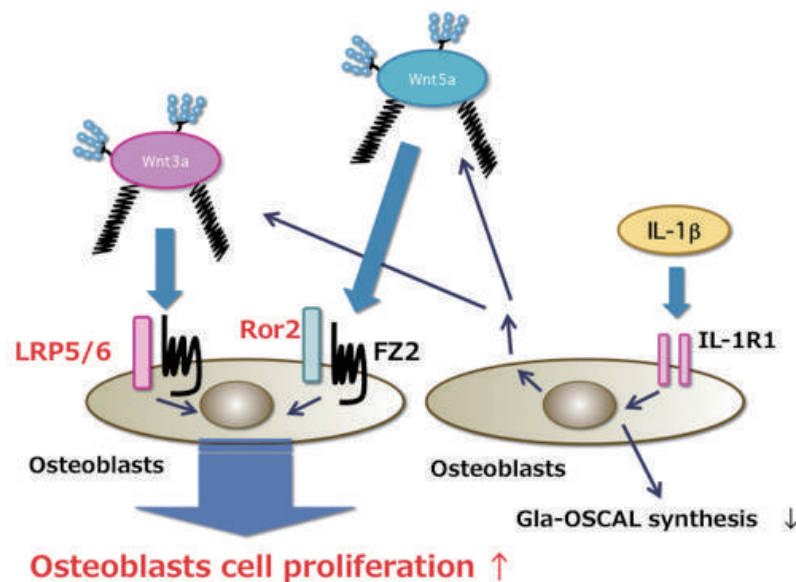


図 IL-1 β 刺激による Wnt シグナルを介した骨芽細胞様細胞の応答

【方法】 ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞 MG-63 細胞およびヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞様細胞 hSMSC-OB 細胞（愛知学院大学歯学部歯内治療学講座 尾関伸明講師より供与）を用い、細胞増殖測定、RT-PCR 法、ELISA 法にて測定を行った。

細胞増殖測定において、抗 BrdU モノクローナル抗体を用いた ELISA 法にて細胞増殖を測定し、各種遺伝子発現は通常法による RT-PCR 法にて測定した。Gla-OSCAL、Wnt3a、および Wnt5a 産生量は ELISA 法を用いて測定した。

【結果】 IL-1 β 刺激により、ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞（MG-63 細胞）およびヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞様細胞（hSMSC-OB 細胞）において統計的に有意に細胞増殖が促進された。

一方、Wnt 受容体である Ror2、LRP5、および LRP6 の遺伝子発現が、MG-63 細胞および hSMSC-OB 細胞において定常状態で確認された。また、MG-63 細胞においては、IL-1 β 刺激により、Wnt3a および Wnt5a 産生が促進され、Gla-OSCAL 産生は抑制された。Wnt3a および Wnt5a 刺激により、MG-63 細胞および hSMSC-OB 細胞において細胞増殖が促進されたが、Gla-OSCAL 産生には影響を及ぼさなかった。

【考察】 以上の知見から、IL-1 β は骨芽細胞様細胞である MG-63 細胞において Wnt3a または Wnt5a 産生を促進し、産生された Wnt3a または Wnt5a はオートクリンまたはパラクリン的に骨芽細胞様細胞の細胞増殖を促進させる可能性が示唆された。

炎症性サイトカインの一種である IL-1 β は、関節炎リウマチの炎症部位に高濃度に産生しており、骨吸収が著しく促進されている。本研究において、IL-1 β が骨芽細胞の増殖を促進させており、骨形成を抑制することから慢性関節炎リウマチまたは骨粗鬆症のような高回転型骨代謝に類似した現象を誘導していると考えられる。このような骨吸収が過剰に進行する骨破壊疾患において、Wnt シグナル系は新たな治療標的と考えられるため、新規治療薬の開発へと繋がることを期待する。

【謝辞】 愛知学院大学医療生命薬学研究所 医療生命薬学助成により、本研究を実施できました事に感謝申し上げます。また、ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞様細胞 hSMSC-OB 細胞を供与していただきました愛知学院大学歯学部歯内治療学講座 尾関伸明講師に深謝致します。

【研究成果】

学会発表

森田あや美、尾関伸明、茂木真希雄：ヒト骨芽細胞の IL-1 β 誘導性細胞増殖における Wnt シグナルの関与。第136回 日本薬学会年会、横浜、平成28年3月