

教育研修講座

骨吸収を調節する骨芽細胞の新しい役割*

高橋直之†

はじめに

骨吸収を司る破骨細胞は、単球・マクロファージ系前駆細胞より分化する。その分化は、骨芽細胞・骨髄由来ストローマ細胞により厳格に調節されている。近年、破骨細胞の分化および活性化を誘導する因子 RANKL (receptor activator of NF- κ ligand), その受容体である RANK (receptor activator of NF- κ) とデコイ受容体として作用する OPG (osteoprotegerin) が発見され、破骨細胞の分化と活性化機構を分子レベルで語るができるようになった。またこれらの分子の遺伝子変異が、ヒトにおいて骨代謝障害を引き起こすことが示された。さらに最近、われわれは、骨芽細胞は破骨細胞の形成部位を決める機能も有していることを見出した。本稿では、破骨細胞の分化と機能を調節する骨芽細胞の役割について解説するとともに、ヒトで見出された RANK, OPG および RANKL の遺伝子変異と骨疾患についてもまとめた。

1. 骨芽細胞による破骨細胞の分化と機能の調節

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系の間質細胞や骨髄由来ストローマ細胞(骨芽細胞とする)により厳密に調節されていることが示された¹⁾。1990年、op/opマウスの解析より、骨芽細胞の産生する M-CSF (macrophage-colony stimulating factor) が破骨細胞の分化に必須な

因子であることが判明した¹⁾。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 と同一タンパクであることが明らかにされた²⁾。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 を発現し、破骨細胞の形成を支持する。一方、単球・マクロファージ系細胞である破骨前駆細胞は 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、単核の前破骨細胞に分化する。前破骨細胞は、融合因子である DC-STAMP (dendritic cell-specific transmembrane protein) を発現し、それを介して多核の破骨細胞に分化する^{3),4)}。骨芽細胞は M-CSF を恒常的に発現する。一方、骨芽細胞の RANKL の発現は、活性型ビタミン D₃ [1 α , 25(OH)₂D₃] や副甲状腺ホルモン (PTH, parathyroid hormone) などの骨吸収促進因子により誘導される。また、成熟破骨細胞も RANK を発現しており、RANKL からの刺激を受けて骨吸収活性を発現する²⁾。骨芽細胞は M-CSF を恒常的に発現する一方、骨芽細胞は各種の骨吸収促進因子の刺激を受け RANKL を発現する。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 OPG を分泌する²⁾。分泌された OPG は、選択的に RANKL に結合し、RANKL-RANK 相互作用を阻害して、骨吸収を抑制する。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 (図1)。

2. 破骨前駆細胞における分化誘導シグナル

M-CSF の受容体である c-Fms は、細胞内領域にチロシンキナーゼを持つ (図2)。一方、RANKL が RANK に結合すると、アダプター分子である TRAF (tumor necrosis factor receptor-associated factor) が活性化

Key words: Osteoclast, Osteoblast, Osteoclast niche

*A new role of osteoblasts in osteoclastogenesis
第22回日本整形外科学会基礎学術集会(浜松)において、教育研修講演として発表した。

†松本歯科大学総合歯科医学研究所硬組織疾患制御再建学部門。
Naoyuki Takahashi: Division of Hard Tissue Research, Institute for Oral Science, Matsumoto Dental University

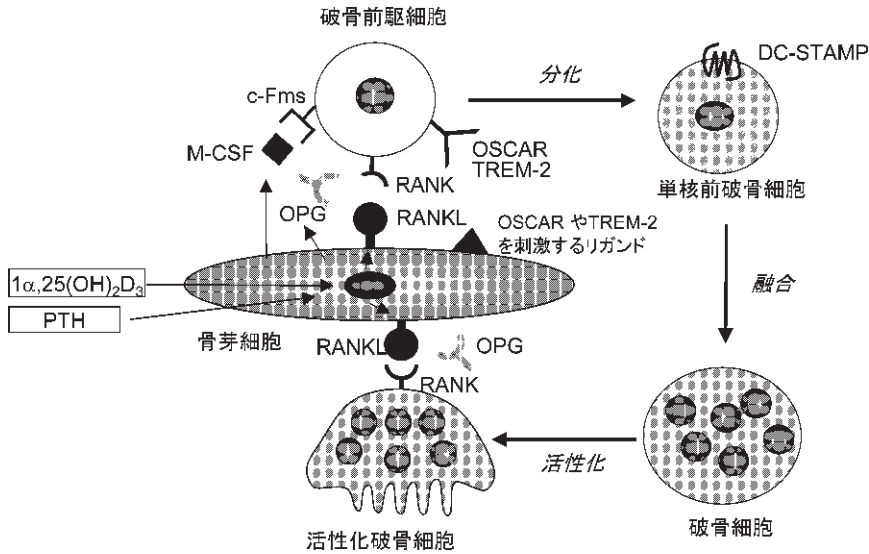


図1 骨芽細胞による破骨細胞の分化誘導。単球・マクロファージ系の破骨前駆細胞は、RANKLの受容体RANKとM-CSFの受容体c-Fmsを発現する。破骨前駆細胞は、骨芽細胞が発現するRANKLとM-CSFを認識して、単核前破骨細胞骨に分化する。単核前破骨細胞は、融合因子DC-STAMPを発現しており、それを介して多核の破骨細胞に分化する。破骨細胞もRANKを発現し、RANKLからの刺激を受け、骨吸収活性を発現する。骨芽細胞は、RANKLのデコイ受容体であるOPG (osteoprotegerin) も分泌し、破骨細胞形成と機能を負にも制御する。骨吸収促進因子である $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ やPTHは、骨芽細胞に作用してRANKLの発現を誘導し、破骨細胞の分化と機能を促進する。また、破骨前駆細胞の免疫受容体であるOSCARやTREM-2からのITAMシグナルも破骨細胞分化に重要な役割を担っている。骨芽細胞が免疫受容体を刺激するリガンドを発現すると想定されている。

される。とりわけ TRAF6 シグナルが⁸、破骨細胞の分化誘導には重要であると考えられている^{5),6)}。すなわち、① TRAF6 欠損マウスは大理石骨病を呈する。② TRAF6 欠損の破骨前駆細胞の破骨細胞への分化が障害されている。③ TRAF6 を破骨前駆細胞に強制発現させると、RANKL 刺激なしでも破骨細胞に分化する。さらに、TRAF シグナルは、NF- κ B (nuclear factor κ B), JNK (c-Jun N-terminal kinase), p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase) および c-Fos など下流シグナルを活性化する。これらのシグナルは最終的に、破骨細胞分化を誘導する転写因子 NFATc1 (nuclear factor of activated T cells 1) の発現を誘導する⁷⁾。一方、免疫受容体である OSCAR (osteoclast-associated receptor) や TREM-2 (triggering receptor expressed by myeloid cells-2) を介したシグナルも、破骨細胞分化に重要な役割を持つ^{8),9)}。これらの免疫受容体は、ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) モチーフを持つアダプター分

子 DAP12 (DNAX-activating protein 12) や FcR γ (Fc receptor common γ subunit) と共役している^{9),10)}。骨芽細胞が免疫受容体を刺激するリガンドを発現すると想定されている¹⁰⁾。ITAM シグナルは、細胞内 Ca^{2+} シグナルを誘導し、NFATc1 を活性化する。実際に、DAP12 と FcR γ のダブル欠損マウスは、破骨細胞形成が抑制された大理石骨病を発症する⁹⁾。また、RANKL 刺激も DAP12 と FcR γ の ITAM モチーフのチロシン残基のリン酸化を誘導する。最近、CAMK (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase) および CAMK によって活性化される CREB (cAMP-response element-binding protein) が、細胞内 Ca^{2+} シグナルの下流で重要な役割を担っていることが報告された¹¹⁾(図 2)。

3. ヒトに見出された RANK, OPG および RANKL 変異

(1) RANK 遺伝子変異

RANK (遺伝子名 TNFRSF11A) は、細胞外領域に

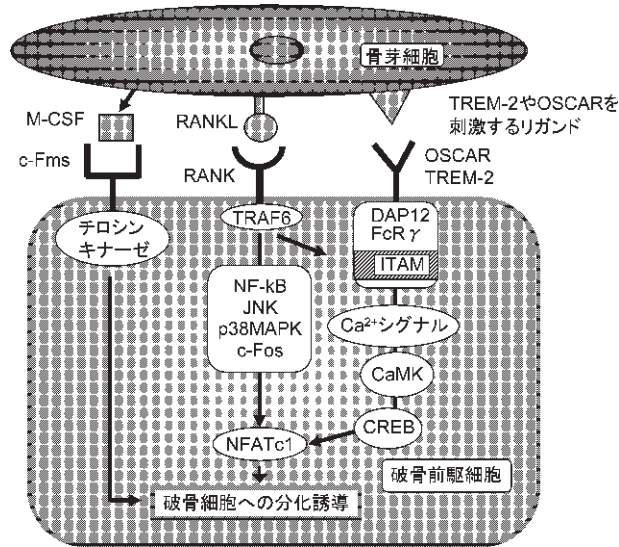


図2 破骨前駆細胞における分化誘導シグナル。M-CSFがc-Fmsに結合するとチロシンキナーゼ系のシグナル経路が活性化される。一方、RANKLがRANKに結合すると、TRAF6が活性化される。さらに、NF- κ B、JNK、p38 MAPK、c-Fosなど下流シグナルが活性化され、最終的に破骨細胞分化を誘導する転写因子NFATc1が誘導される。免疫受容体OSCARやTREM-2を介したシグナルも、破骨細胞分化に重要な役割を担う。免疫受容体は、ITAMモチーフを持つアダプター分子DAP12やFc γ と共役し、細胞内Ca²⁺シグナルを導き、最終的にNFATc1を活性化する。またRANKL刺激は、ITAMも活性化する。細胞内Ca²⁺からNFATc1へのシグナル伝達の過程で、CAMK-CREBシグナル系が重要な役割を担っていると報告された。

シグナルペプチド(SP)部分と4カ所のシステインリッチドメイン(CRD)を持つ(図3)。RANKの変異は、すべてSP部分に見出されている。Hughesら¹²⁾は、家族性広汎性骨溶解症FEO(familial expansile osteolysis)と家族性パジェット病FPDB(familial Paget's disease of bone)の家系において、RANK遺伝子の2つの変異を見出した。84番目の塩基から18塩基の重複(84dup18)と75番目の塩基から27塩基の重複(75dup27)である。FEOは局所の骨リモデリング活性が亢進する常染色体優性の疾患で、骨芽細胞と破骨細胞の活性が共に亢進している。一方FPDBは、血清アルカリホスファターゼ活性が正常値の10倍から20倍の高値を示し、骨の溶解像や硬化像とともに長管骨や顎骨の変形が認められる。Nakatsukaら¹³⁾も、75dup27を認めた顎骨の変形を伴うパジェット病様骨所見を示す患者症例を報告した。続いて、家族性広汎性骨性高ホスファターゼ血症ESH(familial expansile skeletal hyperphosphatasia)を呈する母と娘において、

RANK遺伝子の84番目の塩基から15塩基の重複(84dup15)が発見された¹⁴⁾。Palenzulaら¹⁵⁾も、スペインのFEO家系を解析し、84dup18変異を報告した。また、Johnson-Paisら¹⁶⁾は、83番目の塩基から18塩基の重複(83dup18)を他のFEO患者に見出している。Hughesら¹²⁾は、野生型RANKおよび変異RANK(84dup18)とRANK(75dup27)を293EBNA細胞にそれぞれ発現させて、NF- κ Bシグナルを解析し、野生型RANKに比べて、変異RANKにNF- κ Bシグナル亢進作用があることを報告した。また、83dup18変異はRANKタンパク質の安定的な構造をとることが予想された。以上の知見は、RANKのSP部分に認められる重複変異は、RANKの恒常的活性化を誘導すると考えられる。

(2) OPG 遺伝子変異

OPG(遺伝子名TNFRSF11B)は、N末端側に存在する4カ所のシステインリッチドメイン(CRD)を介して、RANKLに結合する(図4)。若年性骨パジェット病

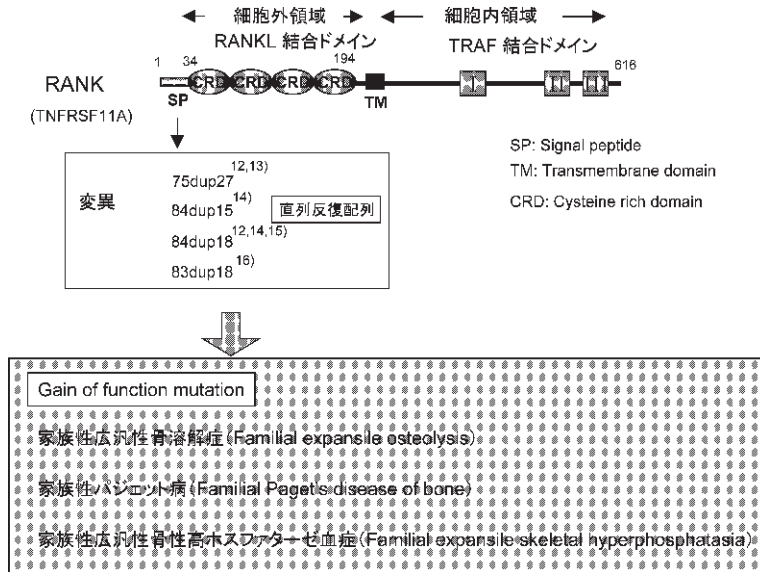


図3 RANKの構造および変異と疾患。RANKは、細胞外領域にSP部分と4カ所のCDRを持つ。RANKの変異はすべてエクソン1にコードされるSP部分に見出される。84番目の塩基から15塩基の重複(84dup15)、75番の塩基から27塩基の重複(75dup27)、84番目の塩基から18塩基の重複(84dup18)、83番目の塩基から18塩基の重複(83dup18)である。これらの変異はRANKの恒常的活性化を誘導するgain of function mutationである。家族性広汎性骨溶解症、家族性パジェット病、家族性広汎性骨性高ホスファターゼ血症を発症する。矢印はおよその変異箇所を示す。変異の肩数字は文献を示す。

は、幼少期より皮質骨の菲薄化と海綿骨の粗糙化および骨リモデリングの著しい亢進が認められる常染色体劣性の遺伝病である。Whyteら¹⁷⁾は、この遺伝病を発症した2つの家系を調べ、OPGをコードする領域のホモ欠損を見出した。続いて、Cundyら¹⁸⁾は、別の若年性高ホスファターゼ血症患者(若年性骨パジェット病)において、OPG遺伝子の新たな変異を発見した。この変異では、第4番目のCRD内182番目のアスパラギン酸を欠失(D182del)していた。この変異OPGは異常な糖鎖修飾を受けており、骨吸収抑制活性が弱いことが示された^{16),19)}。さらに、特発性高ホスファターゼ血症の5家系において、5つのOPG遺伝子変異が発見された²⁰⁾。65番システインのアルギニンへの変異(C65R)、87番システインのチロシンへの変異(C87Y)、117番フェニルアラニンのロイシンへの変異(F117L)、199番バリンのアルギニンへの変異後フレームシフトのため203番に停止コドンを生じる(V199RfsX5)、323番目のアスパラギン酸のセリン変異後フレームシフトのため325番に停止コドンを生じる(D323SfsX3)変異である。OPGのCRDの近傍のC65R、C87YおよびV199RfsX5は、

重篤な表現型を呈する。一方、C末端のD323SfsX5は、軽度な表現型を示す^{20),21)}。F117LおよびD182del変異の表現型は、これらの中間の表現型を示す²⁰⁾。C65RおよびC87Yは、CRD内でのS-S結合障害のためRANKLに結合できなくなる可能性が推察される。これらの疾患では、OPGの欠損あるいは機能不全のOPGが発現することにより骨吸収が亢進した結果、骨形成も亢進すると考えられる。

(3) RANKL 遺伝子変異

RANKL(遺伝子名 TNFSF11)は、細胞外にTNF相同性領域をもつサイトカインである(図5)。常染色体劣性のヒト大理石骨病の原因遺伝子として、CA2(carbonic anhydrase II)、TCIRG1(ATPase A3 subunit)、CCL7(chloride channel 7)およびOSTM1(osteopetrosis associated transmembrane protein 1)が知られている。これら遺伝子変異では、破骨細胞は存在するが、破骨細胞の機能不全のため、大理石骨病が発症する。一方Sobacchiら²²⁾は、骨組織に破骨細胞が存在しない大理石骨病を発見した。その骨吸収不全

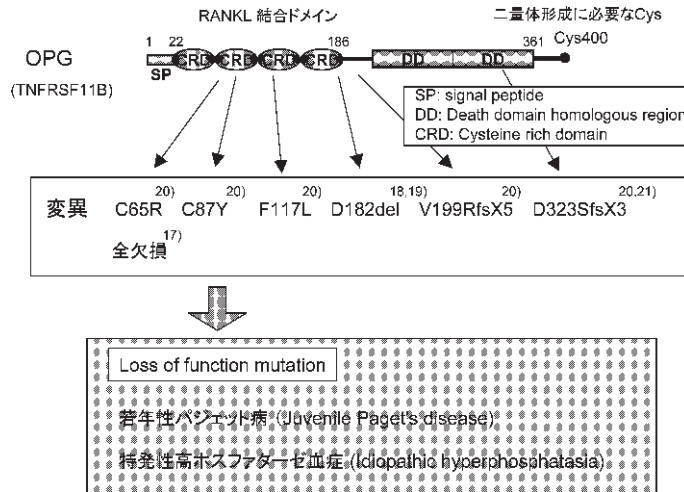


図4 OPGの構造および変異と疾患。OPGは、N末端側にシグナルペプチド(SP)と4カ所のシステインリッチドメイン(CRD)を持ち、C末側に2カ所の death domain homologous region(DD)を持つ。OPGの変異には、全欠損のほか、65番システインのアルギニンへの変異(C65R)、87番システインのチロシンへの変異(C87Y)、117番フェニルアラニンのロイシンへの変異(F117L)、199番バリンのアルギニンへの変異後フレームシフトのため203番に停止コドンを生じる(V199RfsX5)、323番目のアスパラギン酸のセリン変異後フレームシフトのため325番に停止コドンを生じる(D323SfsX3)変異が認められている。これらの変異は、OPGの機能不全を誘導する loss of function mutation である。若年性骨パジェット病や特発性高ホスファターゼ血症を発症する。矢印はおよその変異箇所を示す。変異の肩数字は文献を示す。

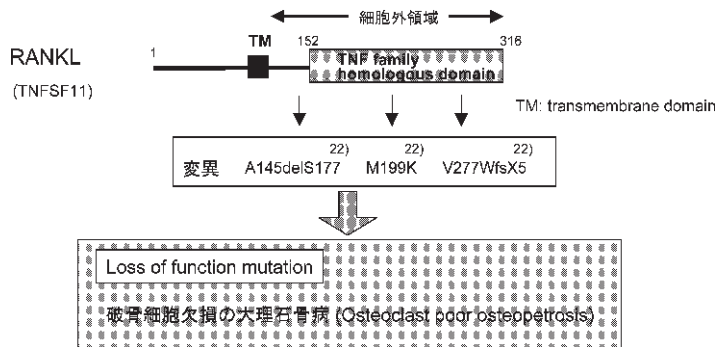


図5 RANKLの構造および変異と疾患。RANKLはC末側が細胞外領域で、そこに TNF-family homologous domain をもつ。RANKLの変異は、145-177番のアミノ酸の欠失変異、199番のメチオニンのリシンへの変異(M199K)、828-829番の塩基欠失によるフレームシフトのためアミノ酸配列281番に停止コドンが出現する(V277WfsX5)変異である。これらの変異は、RANKLの機能不全を誘導する loss of function mutation である。破骨細胞の存在しない大理石骨病を発症する。矢印はおよその変異箇所を示す。変異の肩数字は文献を示す。

を改善する目的で、3人の患者に造血幹細胞移植を行った。しかし、大理石骨病の改善は認められなかった。そ

こで、RANKL 遺伝子を解析し、4家系6人の患者に RANKL 遺伝子の変異を発見した(図5)。家系1にお

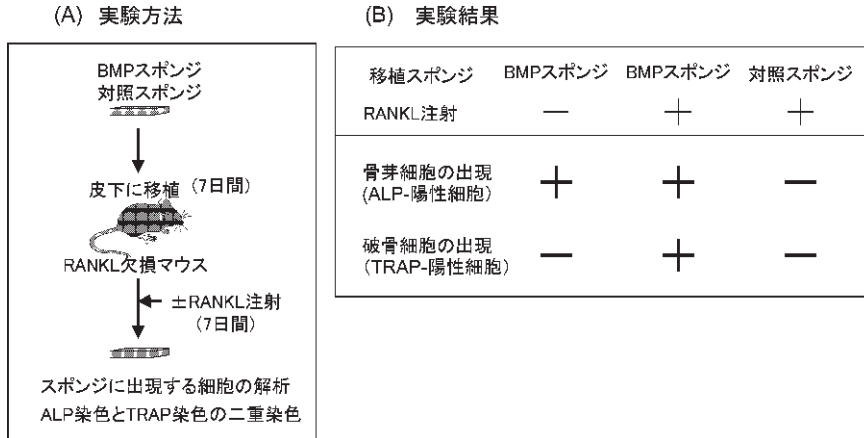


図6 破骨細胞形成部位の決定に関与する骨芽細胞。(A) RANKL 欠損マウスを用いた異所性骨形成実験方法：BMP スポンジあるいは対照スポンジを RANKL 欠損マウスに1週間移植した。その後、1群に RANKL を1週間腹腔投与した。そこで、移植片を摘出し、ALP と TRAP 染色を施し、骨芽細胞と破骨細胞の出現を解析した。(B) 実験結果：RANKL 欠損マウスへ移植した BMP スポンジには、ALP 陽性骨芽細胞は出現したが、対照スポンジには出現しなかった。また、RANKL 投与により、BMP スポンジには、ALP 陽性骨芽細胞に近接して TRAP 陽性破骨細胞が出現した。一方、対照スポンジには、破骨細胞は出現しなかった。

ける変異は、第7イントロンの5つの塩基の欠失であった。そのため、第7エクソンが翻訳されず、RANKLの活性に必要な領域の145-177番のアミノ酸の欠失が生じていた。家系2と4では、199番のメチオニンがリシンに変異(M199K)していた。家系3は、828-829番塩基の欠失によるフレームシフトのためアミノ酸281番に停止コドンが出現する(V277WsfX5)変異を有していた。この患者の末梢血由来の単核細胞をRANKLとM-CSFで刺激すると、骨吸収能をもつ破骨細胞が形成された。これらの大理石骨病患者の血液検査所見は正常範囲内であることやT細胞のサイトカイン産生能に異常は認められないことより、免疫系は正常に機能していることが示唆された。また、造血幹細胞移植が成立した患者において、正常T細胞が存在したにもかかわらず、大理石骨病は治癒しなかった。この知見は、通常の破骨細胞形成にはT細胞が産生するRANKLは寄与しないことを意味する。

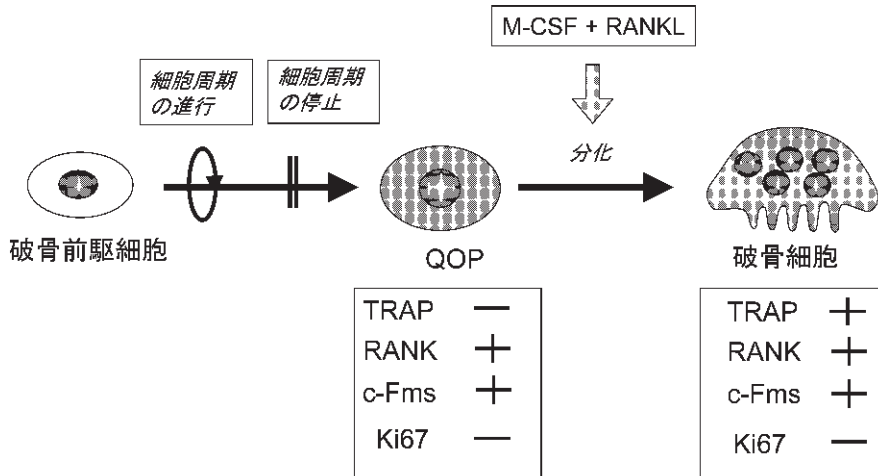
4. 破骨細胞形成部位の決定に関与する骨芽細胞

従来、骨芽細胞はRANKL、M-CSFおよびOPGの発現調節を介して、破骨細胞の形成部位を決定すると考えられてきた。しかし最近、破骨細胞の形成部位を決定するのは、これらの因子の発現部位ではなく、骨

芽細胞自身による破骨前駆細胞の支持機構である可能性が示された。以下に、3つの実験結果を紹介し、骨芽細胞の新たな機能を提唱したい。

(1) RANKL 欠損マウスを用いた BMP 移植実験

骨誘導因子BMP(bone morphogenetic protein)を含むコラーゲンスポンジを、マウスの筋膜下に1週間移植すると、コラーゲンスポンジ内にALP(alkaline phosphatase)陽性の骨芽細胞が誘導される²¹⁾。同時に、TRAP(tartrate-resistant acid phosphatase)陽性の破骨細胞もALP陽性骨芽細胞に近接して出現する。RANKL欠損マウスにRANKLを投与すると、破骨細胞は骨組織にのみ誘導され、周囲の軟組織には破骨細胞は誘導されない。そこで、BMPスポンジをRANKL欠損マウスに移植し、破骨細胞形成を解析した²³⁾。BMPスポンジあるいは対照スポンジをRANKL遺伝子欠損マウスに1週間移植し、その後1群にRANKLを1週間腹腔内投与した(図6-A)。そこで移植片を摘出し、骨芽細胞と破骨細胞の出現を解析した(図6-B)。RANKL欠損マウスへ移植したBMPスポンジには、ALP陽性骨芽細胞は出現したが、TRAP陽性破骨細胞は出現しなかった。一方、RANKLを腹腔内投与すると、ALP陽性骨芽細胞に近接してTRAP陽



QOP: Cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursors

図7 破骨前駆細胞の細胞周期と破骨細胞分化. 破骨前駆細胞は、細胞周期の進行と停止を経て破骨細胞に分化する. 細胞周期が停止した破骨前駆細胞をQOPと定義した. QOPは、RANKLとM-CSFの刺激を受け、細胞周期が進行することなく破骨細胞に直接分化する. 図にはQOPと破骨細胞の発現する形質を示した.

性破骨細胞が出現した. しかし、RANKLを投与しても、対照スポンジにはTRAP陽性細胞は出現しなかった(図6-B). 以上の知見は、RANKLを発現しない骨芽細胞でも、破骨細胞の出現部位を決めることができることを示している.

(2) 細胞周期と破骨細胞分化の関連を解析した実験

われわれは、分裂・増殖した核を染色するプロモデオキシウリジン(BrdU)を用いて、骨髄細胞マクロファージ(破骨前駆細胞)の細胞周期と分化の関連を解析した²⁴⁾. 骨髄マクロファージが破骨細胞に分化するには、まず細胞周期を進行させ、その後細胞周期を停止させる. 細胞周期が停止した破骨前駆細胞を静止期破骨前駆細胞(cell cycle-arrested quiescent osteoclast precursor, QOP)と定義した(図7). すなわちQOPは、RANKL刺激により細胞周期が進行することなく破骨細胞に分化する. 次に、BrdUを成体マウスに投与して、*in vivo*でのQOPの存在を解析したところ、QOPは数カ月以上のきわめて長い寿命を持つことが示された. さまざまな方法で破骨細胞を誘導し、誘導された破骨細胞がQOPに由来するか否か解析した. BrdUを投与しながら、①マウスを低Ca食にて飼育した. ②RANKL欠損マウスにRANKLを投与した. ③M-CSF欠損マウスであるop/opマウスには破骨細胞はほとんど存在

しない. このop/opマウスにM-CSFを投与した. 上記の3つの条件にて誘導される破骨細胞の大部分の核は、BrdU陰性であった. すなわち、正常マウスのみならず、RANKL欠損マウスやop/opマウスの骨組織には、QOPが既に存在し、RANKLやM-CSFの刺激で速やかに破骨細胞に分化することが示された.

(3) QOPの体内動態を解析した実験

QOPは、RANKLの受容体RANKとM-CSF受容体c-Fmsを発現しているが、増殖マーカーであるKi67や破骨細胞のマーカーは発現していないと考えられる(図7). 破骨細胞の存在しないRANKL欠損マウスを用いて、骨組織におけるQOPの分布を解析した²⁵⁾. c-FmsとRANKを共発現している細胞は骨表面に沿った場所のみ認められた. またほとんどのRANK陽性細胞はKi67陰性であった. QOPは骨表面にのみ認められるため、骨芽細胞により支持されることが示唆される. QOPはALP陽性骨芽細胞に隣接した場所のみ認められた. 以上より、骨芽細胞はQOPを骨表面で支持することが示唆された. この骨芽細胞によるQOPの支持を、破骨細胞ニッチと名付けた. BMPスポンジによる異所性骨に出現する破骨細胞もQOP由来であるという所見も得ている. 従って、QOPは血流を介して破骨細胞形成部位へ遊走することが示唆される(図8).

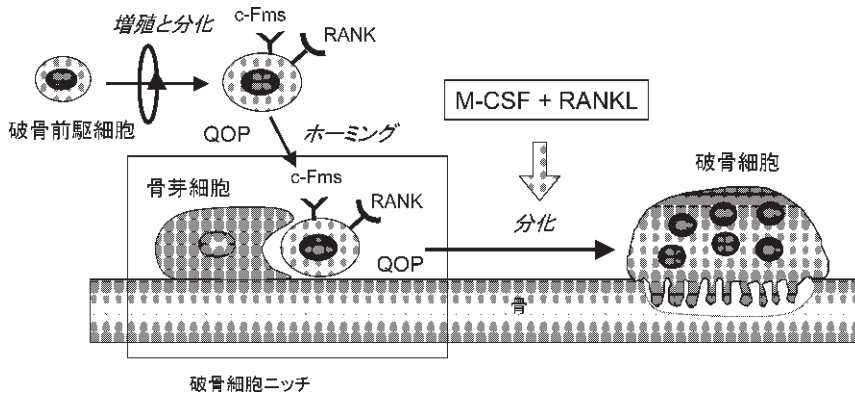


図8 細胞の分化と骨芽細胞が提供する破骨細胞ニッチ. 破骨前駆細胞は細胞周期を進行させた後に, QOP に分化する. QOP は骨組織にホーミングし, 長期間維持される. 骨芽細胞は QOP のホーミングと長期間保持に関わると想定される. 骨芽細胞による QOP の支持機構を破骨細胞ニッチと名付けた. 破骨細胞の形成部位は, 破骨細胞ニッチの分布が決定すると思われる.

骨芽細胞は, RANKL と M-CSF を発現するのみではなく, QOP を保持するニッチ機能も有すると考えられる.

おわりに

破骨細胞分化の調節において, 骨芽細胞が産生する RANKL, M-CSF および OPG が重要な役割を担っている. ヒトにおいても, RANK, RANKL そして OPG の遺伝子変異が骨の病気を惹起することも示され, RANK-RANKL 系は破骨細胞を調節する中心的なシグナルであることが確認された. それに加えて, 骨芽細胞は, QOP の存在部位を提供し, 長期間支持する能力も有している. 骨吸収因子は, RANKL の発現誘導を通して, QOP の破骨細胞への分化と破骨細胞の活性化を誘導する. QOP に関して, どのような機序で骨芽細胞周囲に定住するかなど, 不明な点が多い. 一方, 骨粗鬆症やリウマチなどの代謝性骨疾患における骨破壊の原因を, RANKL と OPG の発現変化に求めてきたが, それらの発現変化だけでは説明ができない事象も多々あるように思われる. そのような場合, 破骨細胞ニッチの増減に関わるのではないかと想定し, 破骨細胞ニッチの解析を進めている. (なお, 本稿は第 22 回日本整形外科学会基礎学術集会における教育研修講演の内容をまとめたものである.)

文 献

- 1) Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocrine Rev* 1992; 13: 66-80.
- 2) Takahashi N, Udagawa N, Suda T. A new member of TNF ligand family, ODF/RANKL/TRANCE/OPGL, regulates osteoclast differentiation and function. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 449-55.
- 3) Kukita T, Wada N, Kukita A, et al. RANKL-induced DC-STAMP is essential for osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2004; 200: 941-6.
- 4) Yagi M, Miyamoto T, Sawatani Y, et al. DC-STAMP is essential for cell-cell fusion in osteoclasts and foreign body giant cells. *J Exp Med* 2005; 202: 345-51.
- 5) Naito A, Azuma S, Tanaka S, et al. Severe osteopetrosis, defective interleukin-1 signalling and lymph node organogenesis in TRAF6-deficient mice. *Genes Cells* 1999; 4: 353-62.
- 6) Gohda J, Akiyama T, Koga T, et al. RANK-mediated amplification of TRAF6 signaling leads to NFATc1 induction during osteoclastogenesis. *EMBO J* 2005; 24: 790-9.
- 7) Takayanagi H, Kim S, Koga T, et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002; 3: 889-901.
- 8) Kim N, Takami M, Rho J, et al. A novel member of the leukocyte receptor complex regulates osteoclast differentiation. *J Exp Med* 2002; 195:

- 201-9.
- 9) Koga T, Inui M, Inoue K, et al. Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature* 2004; 428: 758-63.
 - 10) Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 292-304.
 - 11) Sato K, Suematsu A, Nakashima T, et al. Regulation of osteoclast differentiation and function by the CaMK-CREB pathway. *Nature Med* 2006; 12: 1410-6.
 - 12) Hughes AE, Ralston SH, Marken J, et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nature Genet* 2000; 24: 45-8.
 - 13) Nakatsuka K, Nishizawa Y, Ralston SH. Phenotypic characterization of early onset Paget's disease of bone caused by a 27-bp duplication in the TNFRSF11A gene. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1381-5.
 - 14) Whyte MP, Hughes AE. Expansile skeletal hyperphosphatasia is caused by a 15-base pair tandem duplication in TNFRSF11A encoding RANK and is allelic to familial expansile osteolysis. *J. Bone Miner Res* 2002; 17: 26-9.
 - 15) Palenzuela L, Vives-Bauza C, Fernandez-Cadenas I, et al. Familial expansile osteolysis in a large Spanish kindred resulting from an insertion mutation in the TNFRSF11A gene. *J Med Genet* 2002; 39: E67.
 - 16) Johnson-Pais TL, Singer FR, Bone HG, et al. Identification of a novel tandem duplication in exon 1 of the TNFRSF11A gene in two unrelated patients with familial expansile osteolysis. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 376-80.
 - 17) Whyte MP, Obrecht SE, Finnegan PM, et al. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 175-84.
 - 18) Cundy T, Hegde M, Naot D, et al. A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 2119-27.
 - 19) Middleton-Hardie C, Zhu Q, Cundy H, et al. Deletion of aspartate 182 in OPG causes juvenile Paget's disease by impairing both protein secretion and binding to RANKL. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 438-45.
 - 20) Chong B, Hegde M, Fawcner M, et al. Idiopathic hyperphosphatasia and TNFRSF11B mutations: relationships between phenotype and genotype. *J. Bone Miner. Res.* 2003; 18: 2095-104.
 - 21) Whyte MP, Singhellakis PN, Petersen MB, et al. Juvenile Paget's disease: the second reported, oldest patient is homozygous for the TNFRSF 11B "Balkan" mutation (966_969delTGACins CTT), which elevates circulating immunoreactive osteoprotegerin levels. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 938-46.
 - 22) Sobacchi C, Frattini A, Guerrini MM, et al. Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutations in the gene encoding RANKL. *Nat Genet* 2007; 39: 960-2.
 - 23) Yamamoto Y, Udagawa N, Matsuura S, et al. Osteoblasts provide a suitable microenvironment for the action of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand. *Endocrinology* 2006; 147: 3366-74.
 - 24) 溝口利英, 武藤昭紀, 細矢明宏他. In vivo では細胞周期の停止した破骨前駆細胞 (pOCP) のプールが存在する. 第 24 回日本骨代謝学会学術集会プログラム抄録集 2006; p.208.
 - 25) Mizoguchi T, Muto A, Hosoya A, et al. An osteoclast niche is composed of 5-FU-insensitive osteoclast precursors in vivo. *J Bone Miner Res* 2007; 22 (Suppl 1), S96.