

破骨細胞の極性指標 TRAP-mark は分泌痕跡である

中山 貴裕

松本歯科大学 大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座

Polarized osteoclasts put marks of tartrate-resistant acid phosphatase on dentin slices
-A simple method for identifying polarized osteoclasts-

TAKAHIRO NAKAYAMA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University*

Nakayama T, Mizoguchi T, Uehara S, Yamashita T, Kawahara I,
Kobayashi Y, Moriyama Y, Kurihara S, Sahara N, Ozawa H,
Udagawa N and Takahashi N (2011) *Bone* **49** : 1331-9.

【要旨】

破骨細胞は、骨基質に明帯 (Clear zone) と波状縁 (Ruffled border) を構築する。明帯部分は、アクチンリングに相当する。極性化した破骨細胞の波状縁には液胞型プロトン ATPase (V-ATPase) が局在し、吸収窩にタンパク質を分泌する。また、基質分解に関わる酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) やカテプシン K を吸収窩に分泌する。本研究において、私は極性化した破骨細胞の機能的な痕跡を確認する簡単な方法を確認した。

マウス骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養から得られた破骨細胞を、象牙切片上で48時間培養した。細胞を固定後、切片上で破骨細胞を特定するために TRAP 染色に供した。次に綿棒で切片上の細胞除去し、さらに TRAP 染色と吸収窩染色に供した。小さな TRAP 陽性スポット (TRAP-mark) が、吸収窩に認められた。吸収窩は常に

破骨細胞の存在位置と一致しているわけではなかったが、破骨細胞はすべての TRAP-mark の上に存在した。TRAP-mark の数は培養時間 (12 時間~72 時間) を通じて変化しなかったが、吸収窩面積は経時的に増加した。象牙切片上の破骨細胞と細胞除去後の象牙切片の観察より、アクチンリングと TRAP-mark の位置は一致した。細胞除去後の象牙切片の免疫染色より、カテプシン K と V-ATPase が TRAP-mark に存在することが確認された。アレンドロネート (ビスホスホネート製剤) を破骨細胞培養開始時に添加すると、破骨細胞による吸収窩形成と TRAP-mark 形成は濃度依存的に抑制された。カルシトニンを、吸収窩形成を行っている破骨細胞培養系に添加すると、アクチンリングが先に破壊され、そのあと TRAP-mark は消失した。

以上の結果より、TRAP-mark は極性化した破骨細胞の痕跡であることが示された。