

9. スクレロスチンによる骨リモデリング制御

Bone-remodeling mechanism regulating by sclerostin

小出 雅則・宇田川 信之

Masanori Koide(講師), Nobuyuki Udagawa(教授)

／松本歯科大学歯学部口腔生化学講座・総合歯科医学研究所硬組織疾患制御再建学部門

key words

近年、骨代謝における骨細胞の役割が注目されている。骨に埋め込まれた骨細胞は、力学負荷を感知すると考えられている。運動による力学負荷は骨量の増加や維持に重要である。逆に、微小重力やベッドレストにより骨量は減少する。しかし、どのようなメカニズムで骨量が調節されるのかは不明であった。本稿では、力学負荷と副甲状腺ホルモンによる骨細胞や骨芽細胞を介した骨量調節作用および骨細胞が産生する骨形成阻害因子であるスクレロスチンの発現制御について概説する。

骨代謝
骨細胞
骨形成
スクレロスチン
副甲状腺ホルモン

はじめに

運動は、筋組織におけるエネルギー代謝やホルモン分泌の促進だけでなく、支持組織である骨の増加や維持にも重要である。運動による力学負荷は骨量を増加させ、微小重力やベッドレスト（安静臥床）は骨量を減少させる。この力学負荷は、骨に埋め込まれた骨細胞により感知されると考えられている。しかし、どのようなメカニズムで骨量が増加するのかは不明であった。本稿では、これまでの知見をもとに、力学負荷と副甲状腺ホルモン（parathyroid hormone: PTH）による骨細胞や骨芽細胞を介した骨量の調節作用および骨細胞が産生する骨形成阻害因子であるスクレロスチン（sclerostin）の

発現制御について概説したい。

骨代謝における骨細胞の役割

力学負荷により、骨組織は活性化され骨量は増加する。骨組織は、破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成が絶えず繰り返されるため、恒常性を維持している。この骨改造現象を骨リモデリングという。吸収された骨の量と同量の骨が形成されるために、骨吸収と骨形成を結ぶ共役機構の存在が想定されている¹⁾²⁾。

近年、骨リモデリングに対する骨細胞の役割が注目されている（図1）。骨芽細胞は、自らが産生した骨基質に埋め込まれ、骨細胞へと分化する。骨細胞は骨組織の細胞の多数を占めるが、

骨リモデリングにおける役割は不明であった。近年、Nakashimaら³⁾とXiongら⁴⁾は、骨細胞特異的RANKL(receptor activator of NF-kappa B ligand)欠損マウスを解析し、このマウスでは骨量が顕著に増加することを報告した。すなわち、骨細胞が産生するRANKLは、骨リモデリングを調節する重要な因子であることが示された。破骨細胞の分化は、RANKLのみならず骨芽細胞や骨細胞が産生するRANKLのデコイ受容体であるOPG(osteoprotegerin)によっても厳格に制御されている⁵⁾。Fumotoら⁶⁾は、骨細胞においてOPGの発現が高いことを報告している。我々はOPG欠損マウスを解析し、骨細胞が産生するOPGが皮質骨の骨量維持に極めて重要な役割を担っていることを

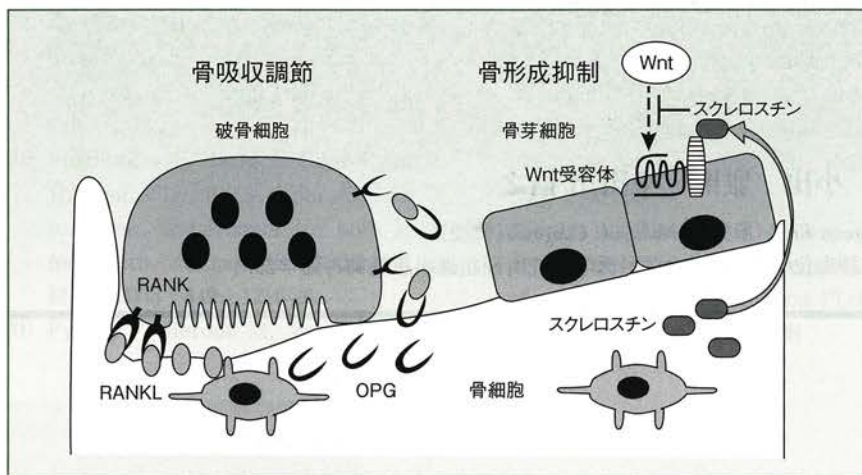


図1 骨細胞の骨代謝調節機構

骨細胞は骨基質に埋め込まれた細胞である。骨細胞はRANKLとOPGの両者を産生して、骨吸収を調節している。骨細胞が産生するスクレロスチンはWntシグナルのアンタゴニストであり、骨形成を抑制する。骨細胞は骨吸収と骨形成の両者を調節する。

見出した⁷⁾。これらの結果より、骨細胞はRANKLとOPGの両者の産生を調節して、全身および局所の骨量を制御していると考えられる。

いる¹¹⁾。スクレロスチンは、骨形成を阻害する因子であることが明らかとなっている(図1)。

スクレロスチンによる骨形成制御

骨形成や骨吸収はWntシグナルによっても調節されている。骨細胞から産生されるスクレロスチンは、Wntの共受容体であるLRP5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6)に結合して、Wnt古典経路を阻害する⁸⁾。したがって、スクレロスチンをコードする遺伝子(Sost)の機能喪失型変異は、骨量の異常増加を伴うSclerosteosisを引き起こす⁹⁾。Sost遺伝子欠損マウスも骨形成の亢進による骨量増加を呈する¹⁰⁾。さらに、抗スクレロスチン中和抗体投与により、骨形成促進に起因した骨量増加が報告されて

力学負荷によるスクレロスチンの発現制御

骨細胞は、力学負荷による骨量の増加や維持にかかわると考えられている。マウス上肢荷重は、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の阻害因子であるSostやDkk1 (Dickkopf1)の発現を低下させる¹²⁾。逆に、尾部懸垂による下肢の荷重負荷減弱は、Sost発現を増加させる。これらの知見より、力学負荷による骨形成促進作用は、スクレロスチンの抑制を介するものと考えられている。

骨膜や歯根膜などに発現する分泌型の細胞外マトリックスタンパク質であるPeriostinは、力学負荷により誘導される。近年、PeriostinはSost発現を制

御することが示された。Periostin遺伝子欠損(Postn-KO)マウスは骨粗鬆症や歯周炎を呈する。Bonnetら¹³⁾¹⁴⁾は、Postn-KOマウスに力学負荷あるいはPTHを投与し、骨細胞のSost発現と皮質骨の骨量の変動を解析した。その結果、Postn-KOマウスでは、力学負荷とPTH投与により、Sost発現は低下せず、皮質骨の骨量は増加しなかった。一方、抗スクレロスチン中和抗体の投与により、Postn-KOマウスの皮質骨の骨量は増加した。これらの結果より、力学負荷とPTH投与は骨膜のPeriostin発現を誘導し、Periostinの刺激により骨細胞のSost発現が低下して、皮質骨の形成が促進することが示された(図2)。これらの知見より、力学負荷とPTH投与による骨細胞のスクレロスチン産生の抑制にはPeriostinがかかわる可能性が示された。

PTHによるスクレロスチンの発現制御

骨リモデリングを活性化させるPTHはスクレロスチンの発現を制御する。PTHは骨細胞のスクレロスチン発現を顕著に抑制するため、PTHの骨形成促進作用の一部は、スクレロスチン抑制を介するものと考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾。PTHの作用機序として、Sost遺伝子の下流のエンハンサーを含んだ52 kb領域の抑制作用が示されている¹⁶⁾(図3)。エンハンサー領域の遺伝子変異はvan Buchem病の原因とされており、Sclerosteosisと類似の症状を呈する。転写因子であるMEF2 (myocyte enhancer factor 2)はエンハン

サー部位に結合して、Sost遺伝子の発現を活性化する。また、PTH刺激は、MEF2を介してSostの発現を低下させた。これらの知見より、PTH刺激によるMEF2を介するSost発現の抑制機構が明らかとなった。

さらに、ヒストン脱アセチル化酵素であるHDAC5(histone deacetylase 5)は、MEF2に結合してSost遺伝子発現を抑制することが示された¹⁷⁾(図3)。HDAC5欠損マウスでは、Sost発現が亢進して、骨形成の低下を呈する。HDAC5のノックダウンは、MEF2の転写活性およびSostの発現を亢進させた。これらの知見より、骨細胞におけるHDAC5とMEF2の結合を介するSost発現の制御機構が明らかとなった。しかし、HDAC5の発現や核内への移行を誘導する経路は明らかとなっていない。今後、HDAC5の発現誘導機構の解明を期待したい。

LRP4によるスクレロステチンの機能調節

Wntの共受容体であるLRP4の欠損や機能喪失は、四肢奇形や合指症、骨癒合症、腎欠損を呈する。骨芽細胞特異的LRP4の欠損マウス¹⁸⁾¹⁹⁾では、骨形成促進による骨量の増加が観察された。Changら¹⁸⁾とXiongら¹⁹⁾は、LRP4がスクレロステチンと結合し、スクレロステチンの抑制機能を惹起することを示した。このLRP4欠損マウスでは、スクレロステチンが細胞膜上に保持されず機能できないため、骨形成が促進していた。同様に、LRP4とスクレロステチンの結合を阻害する抗LRP4抗体の投与は、スクレロステチンによる骨芽細胞の分化

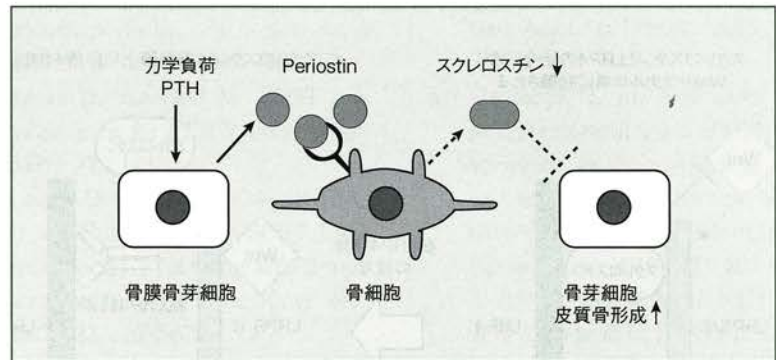


図2 Periostinによるスクレロステチン発現抑制
力学負荷やPTH投与は骨膜のPeriostin発現を誘導し、その刺激により骨細胞のスクレロステチン発現が低下して皮質骨の形成が促進すると考えられている。

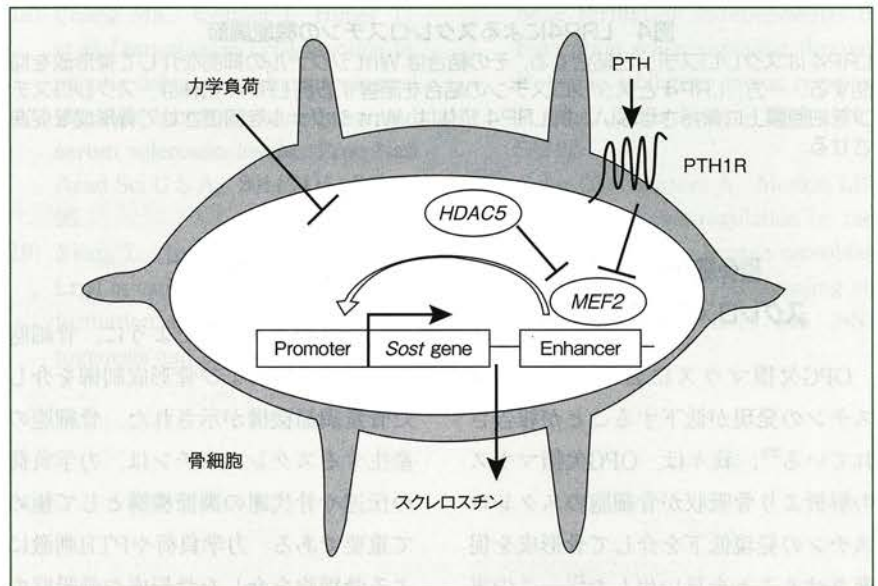


図3 スクレロステチンの発現調節機構
スクレロステチンの遺伝子発現は転写因子であるMEF2がエンハンサー部位に結合して促進される。PTHはMEF2を介してスクレロステチンの発現を抑制する。HDAC5はMEF2と結合してスクレロステチン発現を抑制する。力学負荷による発現制御機構などの詳細は明確でない。

抑制を回復させた(図4)。ラットに抗LRP4抗体を投与すると、スクレロステチン機能が阻害され、骨形成の促進を介して骨量が増加した。これらの結果より、抗LRP4抗体は、抗スクレロステチン

抗体と同様に骨量を増加させる治療薬として有望であることが示された。また、スクレロステチンの機能は、LRP4受容体への結合によっても調節されることが示された。

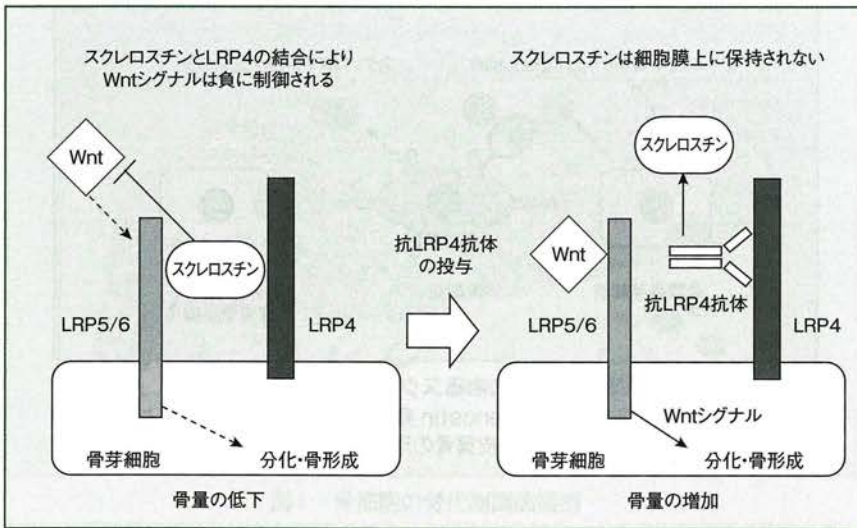


図4 LRP4によるスクレロスチンの機能調節

LRP4はスクレロスチンと結合する。その結合はWntシグナルの抑制を介して骨形成を抑制する。一方、LRP4とスクレロスチンの結合を阻害する抗LRP4抗体は、スクレロスチンを細胞膜上に保持させない。抗LRP4抗体は、Wntシグナルを回復させて骨形成を促進させる。

破骨細胞を介する スクレロスチンの発現制御

OPG欠損マウスにおいてスクレロスチンの発現が低下することが報告されている²⁰⁾。我々は、OPG欠損マウスの解析より骨吸収が骨細胞のスクレロスチンの発現低下を介して骨形成を促進させることを見出した²¹⁾。この実験結果は、スクレロスチンを介する新規の骨吸収と骨形成を結ぶ共役機構の存在を示している。また、スクレロスチンの発現は、gp130²²⁾やPGE₂²³⁾などにより調節されることが報告されている。今後、これらの因子によるスクレロスチンの調節機序が解明されることに期待したい。

おわりに

これまで述べてきたように、骨細胞による骨吸収および骨形成制御を介した骨量調節機構が示された。骨細胞の産生するスクレロスチンは、力学負荷の伝達や骨代謝の調節機構として極めて重要である。力学負荷やPTH刺激による骨細胞を介した骨形成や骨吸収の詳細な制御機構が明らかにされつつある。今後、力学負荷を骨細胞がどのように感知しているのか、骨細胞と骨芽細胞、破骨細胞との情報伝達機構や相互作用についての詳細な解明が待たれる。

文献

1) Xie H, Cui Z, Wang L, et al. PDGF-BB secreted by preosteoclasts

induces angiogenesis during coupling with osteogenesis. *Nat Med.* 2014; **20**: 1270-8.

2) Nakamura M, Udagawa N, Matsuura S, et al. Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption. *Endocrinology.* 2003; **144**: 5441-9.

3) Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med.* 2011; **17**: 1231-4.

4) Xiong JM, Onal RL, Jilka RS, et al. Matrix-embedded cells control osteoclast formation. *Nat Med.* 2011; **17**: 1235-41.

5) Suda T, Takahashi N, Udagawa N, et al. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev.* 1999; **20**: 345-57.

6) Fumoto T, Takeshita S, Ito M, et al. Physiological functions of osteoblast lineage and T cell-derived RANKL in bone homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2014; **29**: 830-42.

7) Koide M, Kobayashi Y, Ninomiya T, et al. Osteoprotegerin-deficient male mice as a model for severe alveolar bone loss. *Endocrinology.* 2013; **154**: 773-82.

8) Li X, Zhang Y, Kang H, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005; **280**: 19883-7.

9) Beighton P, Barnard A, Hamersma H, et al. The syndromic status of sclerosteosis and van Buchem disease. *Clin Genet.* 1984; **25**: 175-81.

10) Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased

- bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res.* 2008 ; **23** : 860-9.
- 11) Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2009 ; **24** : 578-88.
- 12) Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem.* 2008 ; **283** : 5866-75.
- 13) Bonnet N, Standley KN, Bianchi EN, et al. The matricellular protein periostin is required for sost inhibition and the anabolic response to mechanical loading and physical activity. *J Biol Chem.* 2009 ; **284** : 35939-50.
- 14) Bonnet N, Conway SJ, Ferrari SL. Regulation of beta catenin signaling and parathyroid hormone anabolic effects in bone by the matricellular protein periostin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 ; **109** : 15048-53.
- 15) Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone.* 2005 ; **37** : 148-58.
- 16) Leupin O, Kramer I, Collette NM, et al. Control of the SOST bone enhancer by PTH using MEF2 transcription factors. *J Bone Miner Res.* 2007 ; **22** : 1957-67.
- 17) Wein MN, Spatz J, Nishimori S, et al. HDAC5 controls MEF2C-driven sclerostin expression in osteocytes. *J Bone Miner Res.* 2015 ; **30** : 400-11.
- 18) Chang MK, Kramer I, Huber T, et al. Disruption of Lrp4 function by genetic deletion or pharmacological blockade increases bone mass and serum sclerostin levels. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 ; **111** : E5187-95.
- 19) Xiong L, Jung JU, Wu H, et al. Lrp4 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes osteoclastogenesis and bone resorption. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015 ; **112** : 3487-92.
- 20) Masuki H, Li M, Hasegawa T, et al. Immunolocalization of DMP1 and sclerostin in the epiphyseal trabecule and diaphyseal cortical bone of osteoprotegerin deficient mice. *Biomed Res.* 2010 ; **31** : 307-18.
- 21) 小出雅則, 小林泰浩, 山下照仁, 他. 骨吸収の促進は骨細胞における sclerostin の発現を低下させ, 骨形成を促進する 日本骨代謝学会学術集会(第33回), 2015
- 22) Walker EC, McGregor NE, Poulton IJ, et al. Oncostatin M promotes bone formation independently of resorption when signaling through leukemia inhibitory factor receptor in mice. *J Clin Invest.* 2010 ; **120** : 582-92.
- 23) Galea GL, Sunter A, Meakin LB, et al. Sost down-regulation by mechanical strain in human osteoblastic cells involves PGE2 signaling via EP4. *FEBS Lett.* 2011 ; **585** : 2450-4.

小出 雅則(Masanori Koide)

2000年に愛知学院大学大学院歯学研究科修了。
2005年より松本歯科大学総合歯科医学研究所の硬組織疾患制御再建学部門において、歯槽骨や歯周組織の再生治療薬の開発を目指し、基礎と臨床を繋ぐトランスレーショナルな研究をしている。

