

マウス破骨細胞の分化・骨吸収機能に対する Siglec-15抗体の効果

餅田 愛

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
(主指導教員：宇田川 信之 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科博士（歯学）学位申請論文

Effect of anti-Siglec-15 antibody on mouse osteoclast
differentiation and bone resorbing function

AI MOCHIDA

*Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University
(Chief Academic Advisor : Professor Nobuyuki Udagawa)*

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

骨組織においては、破骨細胞による骨の吸収と骨芽細胞による骨の形成が絶え間なく繰り返されている。この骨吸収と骨形成のカップリングにより、力学的なストレスに耐えられる弾力性を有する新しい骨組織が形成される。近年、分子レベルで骨吸収と骨形成に関する研究が進み、さまざまなホルモン、サイトカイン、転写因子の作用機構の詳細が明らかとされ、骨カップリング制御機構を説明するための重要な実験結果が蓄積してきた。Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) は、T細胞やB細胞の受容体と会合する細胞膜アダプター分子の細胞内ドメインに共通してみられるモチーフとして発見された。ITIM配列を有するDNAX-activating protein 12 (DAP12)とFc receptor common γ subunit (FcR γ)は、破骨細胞において発現が高い。DAP12とFcR γ のダブル欠損マウスは骨吸収不全を呈する

大理石骨病を惹起する。最近、DAP12と会合する免疫グロブリンスーパーファミリー分子として、シアル酸受容体タンパク質であるSialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15 (Siglec-15)が同定された。Siglec-15は破骨細胞の分化に伴って誘導され、Siglec-15遺伝子欠損マウスは骨吸収が抑制され骨量が増加するが、破骨細胞数はほとんど減少しない。また、骨形成に対しては、骨形態計測の結果から、骨芽細胞数や骨形成速度などの骨形成パラメーターが野生型正常マウスと比べ、ほとんど差が無いと報告されている。この実験結果は、破骨細胞の存在が骨芽細胞の活性を支え、骨吸収と骨形成がカップリングしていることを示唆している。本研究においては、Siglec-15の作用を中和するSiglec-15抗体の効果について、マウス由来の細胞培養系において検討した。

Siglec-15抗体は、マウス骨髄細胞培養系に RANKL と M-CSF を添加し 3 日間で破骨細胞が誘導される条件で、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 陽性の多核破骨細胞の分化を阻害した。この時、TRAP 陽性の単核破骨細胞は多数残存していた。骨髄細胞を長期 (約 2 週間) にわたり培養する系において、Siglec-15抗体は、TRAP 陽性の多核破骨細胞の分化を阻害すると共に、M-CSF と RANKL の存在下でアルカリホスファターゼ (ALP) 陽性の骨芽細胞を多数誘導した。Siglec-15抗体の代わりに、RANKL のデコイ受容体であるオステオプロテゲリン (Osteoprotegerin: OPG) を添加しても、ALP 陽性の骨芽細胞の誘導は認められなかった。長期骨髄細胞培養系においても、Siglec-15抗体は多核破骨細胞形成を抑制するが、単核 TRAP 陽性破骨細胞は多数残存していた。骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系において、RANK 陽性および c-Fms 陽性の破骨細胞前駆細胞 (qOP) が出現する。Siglec-15抗体は qOP の形成に対して抑制効果を示さなかった。

成熟破骨細胞の機能に対する Siglec-15抗体の効果解析した。Siglec-15抗体の 2 時間処理は、破骨細胞の象牙切片上におけるアクチンリング形成を阻害した。また、象牙切片上の吸収窩形成も

Siglec-15抗体の 2 日間処理により強く阻害された。

最近、骨細胞の特異形質であるスクレロステチンは、骨形成を阻害する作用を有し、骨形成を制御する因子として重要な役割を果たしていることが明らかとされた。また、破骨細胞の培養上清は、骨肉腫由来細胞である UMR106細胞に発現するスクレロステチンの発現を阻害することが報告されている。そこで、破骨細胞に Siglec-15抗体を処理し、その培養上清の UMR106細胞におけるスクレロステチン発現に対する効果を解析した。その結果、Siglec-15抗体の処理の有無に拘らず、破骨細胞におけるスクレロステチン発現は阻害された。前述の実験系における破骨細胞由来のスクレロステチン発現抑制因子は、Leukemia inhibitory factor (LIF: 白血病阻害因子) であることが明らかとされている。そこで、LIF を含む破骨細胞の特異形質発現に対する Siglec-15抗体の効果について検討した。成熟破骨細胞に Siglec-15抗体を処理しても、カテプシン K および RANK の発現維持と同様に、LIF 発現も維持されていた。

以上の実験結果から、Siglec-15抗体は多核破骨細胞の分化と骨吸収機能を阻害すると共に骨芽細胞の分化を促進する可能性が考えられる。