

BMP 誘導性の異所性骨における 骨形成抑制因子スクレロスチンの発現

松下 雅衣

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：芳澤 享子 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

Analysis of expression of sclerostin,
A bone formation inhibitor, in BMP-induced ectopic bone

MAI MATSUSHITA

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

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

現在、歯科臨床において、顎骨腫瘍の摘出後の欠損を補う自家骨移植あるいは骨誘導再生法による顎骨の再生医療が行われている。これらの治療における臨床的課題として、移植骨の経時的な吸収や形成される再生骨量の不足が問題となっている。一方、骨組織における骨細胞の役割は永年不明であったが、近年、スクレロスチンというタンパク質を特異的に分泌していることが発見され、スクレロスチンには骨形成抑制作用があることが報告された。スクレロスチンは骨細胞から特異的に分泌されるタンパク質で、スクレロスチンの働きを阻害する抗スクレロスチン抗体は新規の骨粗鬆症治療薬として注目され、近年臨床応用されている。骨誘導因子（Bone morphogenetic protein : BMP）は、骨基質中に存在し、異所性骨形成を誘導するタンパク質である。BMP 誘導性の異所性骨におけるスクレロスチンの発現については、

未だ明らかにされていない。そこで、本研究では、リコンビナント BMP-2 誘導性異所性骨におけるスクレロスチンの発現を観察し、その形成・吸収過程におけるスクレロスチンの役割を解析し、顎骨欠損に対する再生医療の研究に貢献することを目的とした。

BMP-2を浸漬した直径 2 mm の円柱のコラーゲンペレットを作製した。生後 7 週齢雄の C57BL/6 マウスの右側大腿部内側の筋膜下にペレットを移植し、移植後 7 日、10 日、2 週、4 週、6 週後に誘導されたペレットを採取した。採取した異所性骨をマイクロ CT および各種染色により組織学的解析を行った。

BMP 埋入後 7 日で回収したペレットでは、マイクロ CT で解析可能な石灰化は認められなかった。組織学的解析では、移植した BMP ペレットを取り囲むメタクロマジー陽性（トルイジンブ

ルー染色)の軟骨組織を含む結合組織が認められた。また、アルカリホスファターゼ (Alkaline phosphatase : ALP) 陽性の骨芽細胞も多数認められた。BMP 埋入後10日で回収した異所性骨では、マイクロ CTにおいて、BMP ペレット外周に石灰化像を認めた。組織学的解析では軟骨組織と骨組織を認めた。ALP 陽性の骨芽細胞と共に、トリジンブルー染色で認識される軟骨基質中に多数の軟骨細胞を認めた。抗スクレロスチン抗体を用いた免疫染色では、軟骨細胞においてスクレロスチンの発現を認め、骨様組織中にもスクレロスチン陽性骨細胞の出現を認めた。BMP 埋入後2週間で回収した異所性骨では、マイクロ CTにおいて、BMP ペレットを完全に取り囲む多孔質な石灰化像を認めた。組織学的解析では、埋入後10日で認められた軟骨様組織はほぼ消失し、骨様組織が占めていた。ALP 染色では、骨芽細胞と軟骨細胞で陽性を示した。また、多孔質な石灰化組織に存在する骨細胞において、スクレロスチン発現が強く認められた。これらの骨細胞は、骨細胞の特異形質である象牙質マトリックスタンパク質-1 (Dentin matrix protein-1 : DMP-1) と線維芽細胞成長因子-23 (Fibroblast growth factor-23 : FGF-23) のタンパク質発現が認められ

た。BMP 埋入後4週間で回収した異所性骨では、マイクロ CTにおいて、石灰化物の不透過性が充進するとともに、外殻の厚さは薄くなっていた。組織学的解析では、層板様構造の石灰化物が認められ、ALP 染色では骨芽細胞で陽性を認めるが、埋入後2週間よりも弱い発現であった。層板骨の骨組織は扁平となり、骨細胞におけるスクレロスチン、DMP-1および FGF-23の発現が認められた。BMP 埋入後6週間で回収した異所性骨では、マイクロ CTにおいて、埋入後4週間と同様であった。組織学的解析でも埋入後4週間と類似した層板様構造であった。ALP 染色では骨芽細胞で陽性を認めるが、かなり弱い発現であった。骨細胞におけるスクレロスチン、DMP-1および FGF-23の発現は BMP 埋入後6週間でも維持されていた。

以上の結果より、BMP 誘導性異所性骨において、骨細胞はスクレロスチンを発現していた。また、興味深いことに、BMP 誘導性異所性骨における軟骨細胞において、スクレロスチンの発現が認められた。このことから、スクレロスチンを標的としたアプローチは、顎骨再生医療における BMP 誘導性の異所性骨形成にも有用な骨形成促進作用を示す可能性を示唆している。