

自己免疫疾患の新たな発症機序解明と治療法開発

松本佳則

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腎・免疫・内分泌代謝内科学

【研究の背景】

炎症性サイトカインの産生とそれに伴う関節破壊を特徴とする自己免疫疾患の関節リウマチは、未だ治癒困難であり、原因も未解明である。骨量は骨形成を担う骨芽細胞と、骨吸収を担う破骨細胞のバランスにより維持されているが、破骨細胞優位になるリウマチ病態における骨代謝の制御メカニズムも明らかになっていない。“SH3BP2 (3BP2)”は pleckstrin homology (PH)ドメインの他、Src homology 3 (SH3)ドメイン含有タンパクに結合するプロリンリッチ領域や、リン酸化チロシンに結合する SH2 ドメインを有し、受容体と細胞内シグナルを仲介するアダプタータンパクである。これまでの研究で 3BP2 は骨芽細胞や破骨細胞の分化、機能に必須の因子であることが報告されている¹⁾。3BP2 は下流のチロシンキナーゼ SRC、Syk の活性化を通して破骨細胞の分化、機能を促進する一方、3BP2 ノックアウトマウスでは破骨細胞の骨吸収能が低下し、マウスの骨量が増加する²⁾。更に 2001 年、この 3BP2 の 1 アミノ酸置換を起こすミスセンス変異が、遺伝性骨疾患“チェルビズム”の原因であると報告された³⁾。幼児期に発症する常染色体優性遺伝病のチェルビズムは、激しい顔面骨の炎症を伴う顔面変形、歯牙の脱落を特徴とする炎症性骨疾患で、破骨細胞内の 3BP2 発現量増加が起因する異常活性化した破骨細胞が関与している。この 3BP2 の機能に関連した“因子 A”は骨代謝制御経路で機能することが報告されている。そこで我々は因子 A がリウマチ病態において破骨細胞の分化、機能を制御し、骨代謝をコントロールしているのではないかと考えたが、その生体内での機能は不明で、遺伝学的な検討もなされていない。

【目 的】

本研究では因子 A ノックアウトマウスの解析を通じて、関節リウマチの病態形成における因子 A の遺伝学的意義を明らかにする。

【方 法】

本研究では因子 A ノックアウトマウスを作製し、同マウスの骨髓より抽出したマクロファージに M-CSF、RANKL を添加して破骨細胞分化、機能を解析する。更に in vivo において骨量も検討する。

【結 果】

1. 因子 A は破骨細胞分化、機能を制御する

まず我々は、骨髓より分離したノックアウトマクロファージを RANKL で刺激し、破骨細胞分化を解析した。TRAP 染色での検討において、ノックアウトマクロファージは破骨細胞への分化能が野生型に比して著明に亢進した。次に Corning® Osteo Assay Surface 96-well Multiple Well Plates を用いて分化誘導した破骨細胞の骨吸収能を検討した。その結果、ノックアウトマクロファージは骨吸収能も著明に亢進した。

2. 因子 A は破骨細胞分化マーカーの発現量を制御する

次に我々は、破骨細胞の分化マーカーであるカテプシン K の発現量を検討した。TRAP 染色や骨吸収能の結果に矛盾

なく、因子 A ノックアウト細胞では RANKL の刺激によりカテプシン K の発現量が著明に亢進した。

3. 因子 A は骨量を制御する

前述の結果を in vivo で検討するため、マウスの大腿骨骨量を CT スキャンで解析した。その結果、因子 A ノックアウトマウスでは骨量が著明に低下し、骨粗鬆症を呈した。また因子 A と骨リモデリングの関係を明らかにする為、マウス大腿骨を用いて Histomorphometric analysis を行い、骨粗鬆症の有無や、骨芽・破骨細胞の組織学的検討を行った。その結果、因子 A ノックアウトマウスでは、骨芽細胞数及び骨形成能が低下し、逆に破骨細胞数は著明に増加した。

【考 察】

本研究より因子 A は破骨細胞の分化マーカーの発現量をコントロールし、破骨細胞分化や機能を制御することを示した。また生体内では破骨細胞のみならず、骨芽細胞分化も制御し、骨量維持に関与する重要な因子であることも明らかにした。炎症、骨破壊に関与する因子 A の機能を分子生物学的に明らかにするため、今後因子 A や蛋白 B の下流シグナルの検討を進めていく必要がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究成果から、因子 A は関節リウマチの新たな治療ターゲットになり得ると考えており、新規薬剤の開発も進めていきたい。未だ治癒が困難で、健康寿命や QOL に大いなる影響を及ぼす“関節リウマチ”の病態解明、治療法開発に寄与すべく、本研究を更に推進していきたい。本研究に対して多大なるご支援を頂いた先進医薬研究振興財団の皆様方に感謝致します。

【参考・引用文献】

1. Matsumoto Y, La Rose J, Kent OA, Wagner MJ, Narimatsu M, Levy AD, Omar MH, Tong J, Krieger JR, Riggs E, Storozhuk Y, Pasquale J, Ventura M, Yeganeh B, Post M, Moran MF, Grynepas MD, Wrana JL, Superti-Furga G, Koleske AJ, Pendergast AM, Rottapel R. Reciprocal stabilization of ABL and TAZ regulates osteoblastogenesis through transcription factor RUNX2. *J Clin Invest.* 126(12):4482-4496, 2016
2. Levaot N, Simonic PD, Dimitriou ID, Scotter A, La Rose J, Ng AH, Willett TL, Wang CJ, Janmohamed S, Grynepas M, Reichenberger E, Rottapel R. 3BP2-deficient mice are osteoporotic with impaired osteoblast and osteoclast functions. *J Clin Invest.* 121(8):3244-3257, 2011
3. Ueki Y, Tiziani V, Santanna C, Fukai N, Maulik C, Garfinkle J, Ninomiya C, doAmaral C, Peters H, Habal M, Rhee-Morris L, Doss JB, Kreiborg S, Olsen BR, Reichenberger E. Mutations in the gene encoding c-Abl-binding protein SH3BP2 cause cherubism. *Nat Genet.* 28(2):125-126, 2001