

後藤 久貴 論文内容の要旨

主 論 文

Human bone marrow adipocytes support dexamethasone-induced osteoclast differentiation and function through RANKL expression.

ヒト骨髄脂肪細胞はRANKL発現を介しデキサメサゾンによる破骨細胞分化を促進する

後藤 久貴、尾崎 誠、福島 達也、坂本 和隆、穂積 晃、馬場 秀夫、進藤 裕幸

(Biomedical Research, Vol. 32 No. 1, - 2011)

掲載ページ未定

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻

(主任指導教員：進藤裕幸教授)

緒 言

近年脂肪組織は、脂肪細胞の分泌する生理活性物質（アディポカイン）による内分泌器官としての機能的側面が注目されている。我々はこれまでヒト骨髄脂肪細胞が破骨細胞分化必須因子である Receptor Activator for Nuclear factor κ B Ligand (RANKL)を発現し、ヒト破骨細胞前駆細胞との共培養により破骨細胞分化を促進することを報告した。今回これらに加え、共培養における細胞接触の影響、破骨細胞分化の機能的評価としての骨吸収能の確認、および抗 RANKL 抗体添加による分化抑制につき検討した。

対象と方法

人工股関節置換術時に採取した骨髄液より骨髄脂肪細胞を分離し、RANKL、osteoprotegerin (OPG)、macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) の遺伝子発現、および dexamethasone (DEX) がそれらの発現に与える影響について検討した。また骨髄脂肪細胞とヒト破骨細胞前駆細胞の共培養を行い、破骨細胞分化について TRAP 染色およびリン酸カルシウム薄膜 (Von Kossa 染色) での骨吸収能の検討により評価した。さらに細胞の接触/非接触条件および抗 RANKL 抗体の添加が分化に与える影響につき検討した。

結 果

RANKL、OPG、M-CSF の遺伝子発現と DEX による発現調節の確認を Real Time RT-PCR にて行い、骨髄脂肪細胞から RANKL、OPG、M-CSF の発現を全例に認めた。また DEX により RANKL 発現は 24 時間の培養で有意に増加（平均 3.8 倍）し、RANKL/OPG 比はで経時的に上昇（平均 3.5 倍）した。

破骨細胞前駆細胞と骨髄脂肪細胞の細胞接触条件下での共培養における破骨細胞分化を TRAP 染色で確認したところ、一部多核化（多核化率 4.2%）した TRAP 陽性細胞の出現を認め、DEX 添加により TRAP 陽性多核細胞が増加（多核化率 9.3%）した。また抗 RANKL 抗体添加により TRAP 陽性細胞は認めなかった。

同様の条件下での破骨細胞の骨吸収能の確認のため、リン酸カルシウム薄膜コーティング処理を施した disc を用いた共培養により Von Kossa 染色を行い、いずれも disc 上に吸収窩を認め、DEX 添加により吸収窩は増加していた。

細胞接触の影響の確認のため両細胞を非接触条件にて共培養し、いずれも TRAP 陽性細胞は認めず、リン酸カルシウム薄膜の吸収窩は認めなかった。

考 察

骨髄脂肪細胞の役割については様々な仮説がある。造血細胞と骨組織の間の単なるスペーサー、脂質代謝に働く内分泌器官、エネルギー貯蔵庫、または造血機能や骨代謝の支持細胞といったものである。しかしその機能はいまだ明らかではない。一方、脂肪細胞から分泌されるサイトカイン（アディポカイン）と骨代謝との関係を示すものとして、レプチンは $\beta 2$ adrenergic receptor を介して骨形成を抑制する、アディポネクチンは mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナルを介して骨芽細胞の RANKL 発現を促進し OPG 発現を抑制する、といった報告がある。また骨髄脂肪と骨代謝の関係を示す報告も散見される。Weisberg らは、骨髄脂肪細胞は骨芽細胞分化を抑制するだけでなく、炎症性サイトカインを分泌することにより破骨細胞を誘導すると報告した。また近年、3T3-L1 細胞とラットの脂肪細胞は RANKL と OPG を発現するという報告がある。

もともと骨髄脂肪細胞は間葉系幹細胞を母細胞とし、骨芽細胞とその起源は同じである。そして RANKL は骨芽細胞や骨髄 stromal 細胞などから分泌される破骨細胞分化必須因子であり、その発現は様々な炎症性サイトカイン、PTH、ビタミン D、そしてグルココルチコイドなどに影響される。また破骨細胞分化には、骨芽細胞などの RANKL 発現細胞と破骨細胞前駆細胞との直接の接触が必要であるとされている。

本研究では、先行研究において確認した骨髄脂肪細胞における RANKL 発現、破骨細胞前駆細胞との共培養での破骨細胞分化、および DEX によるそれらの促進という知見に加え、共培養での破骨細胞が、骨吸収能を有すること、分化が骨芽細胞などと同様に細胞接触条件下でのみ認められること、および抗 RANKL 抗体により分化が抑制されることを示した。これらから、骨髄脂肪細胞は破骨細胞分化を促進し、ステロイド骨粗鬆症の発症など、骨代謝に直接的に関係する可能性があると考えられる。

結 語

ヒト骨髄脂肪細胞において破骨細胞分化必須因子である RANKL の発現を認め、その発現は DEX により上昇した。細胞接触下の共培養により破骨細胞前駆細胞は骨吸収能をもつ一部多核の細胞へ分化した。これらより骨髄脂肪細胞は骨代謝に直接的に関与する可能性が示唆された。