



《プレス用原稿》

件名	骨を守るオステオプロテジェリン (OPG) を分解する破骨細胞由来のタンパク分解酵素の同定—骨折や骨粗しょう症の予防・治療に期待—
研究成果のポイント	<ol style="list-style-type: none"> 1. OPG (オステオプロテジェリン) は破骨細胞形成の必須因子 RANKL (Receptor activator of NF-κB ligand) のおとり受容体 (デコイ受容体) として働き、通常は骨を守っていますが、すぐ壊されることが問題になっていました。本研究によって OPG を分解する酵素が破骨細胞から分泌されていることが明らかになりました。 2. OPG を分解する破骨細胞由来のタンパク分解酵素が HtrA1 (High-temperature requirement A serine peptidase 1) であることを突き止めました。
プレス用原稿	<div data-bbox="367 757 1396 1317" data-label="Diagram"> </div> <p>[概要]</p> <p>埼玉医科大学ゲノム医学研究センターの須田 立雄 (客員教授)、仲地 豊 (助教)、横尾 友隆 (講師)らは、大正製薬株式会社、高橋 直之 (松本歯科大学 特任教授) らとの共同研究により、骨を守っているタンパク質 (オステオプロテジェリン、OPG) を分解する破骨細胞由来のタンパク分解酵素として HtrA1 を同定しました。</p> <p>これまで疫学的な研究報告により、OPG が骨折や骨粗しょう症などの発症に関連することが分かっておりましたが、骨吸収の現場における OPG の役割については不明でした。今回の研究により、骨吸収の微小環境で破骨細胞から分泌されるタンパク質分解酵素 HtrA1 が OPG を分解することが明らかになり、OPG がなぜすぐ壊されてしまうのかが明らかになりました。今後は、この酵素の阻害剤を開発することで、HtrA1 をターゲットとした骨折や骨粗しょう症の治療のための創薬が期待されます。</p> <p>本成果はロンドン時間 2019 年 3 月 1 日午前 10 時 (日本時間 同日午後 7 時) に、Nature 姉妹誌の「Communications Biology」で公開されました。</p>



[詳細な説明]

破骨細胞は骨を吸収・破壊できる唯一の細胞です。一方、骨の形成は専ら骨芽細胞によって行われますが、破骨細胞と骨芽細胞の間には密接な相互作用があり、破骨細胞の形成には骨芽細胞がもつ RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) が必須です。RANKL は、将来、破骨細胞になる骨髄マクロファージ (BMM) の細胞表面にある RANKL 受容体 (RANK) に結合することによって破骨細胞を形成します。また、骨芽細胞は RANKL と RANK の結合を阻止するタンパク質 OPG (オステオプロテジェリン、Osteoprotegerin) を分泌し、OPG は RANKL のおとりの受容体 (デコイ受容体) として過剰な骨破壊とならないように骨を守っています。OPG は強力な骨破壊抑制作用を持つことから、これまで OPG を骨粗しょう症などの薬にしようとする取り組みが進められてきましたが、OPG の血中半減期が短いなどの理由によって、現在まで実用化にいたっておりません。

私たちは、骨の局所環境において、OPG 量を調節する機構が存在するのではないかと、いう仮説を立てて研究を進めて参りました。まず、骨芽細胞と BMM の共培養下で BMM が破骨細胞へ分化するのに伴い、培養上清中の OPG 濃度が顕著に減少することを見出しました。さらに、破骨細胞の培養上清を OPG 分解活性に基づき分画し、質量分析法によって 42 種類のタンパク分解酵素 (プロテアーゼ) を同定しました。一方、OPG 分解活性は BMM が破骨細胞に分化する過程で増加することから、RNA シーケンスによって破骨細胞の分化に伴って発現が上昇する遺伝子を OPG 分解酵素の候補分子として選抜しました。その結果、破骨細胞の分化に伴って特に変動が大きかった分泌型プロテアーゼが 4 種類見出されました (図 1)。そのうち、2 つのプロテアーゼ (HtrA1 および MMP9) が質量分析の結果と RNA シーケンスの結果で重複したことから、OPG 分解酵素の候補として選抜されました (図 2)。HtrA1 と MMP9 の OPG 分解活性を評価した結果、HtrA1 は OPG を速やかに分解しましたが、MMP9 には OPG 分解活性を認めませんでした。

また、BMM の細胞培養に RANKL を添加することによって誘導される破骨細胞分化は OPG 添加によって抑制され、HtrA1 を同時添加することにより、OPG の破骨細胞分化抑制作用は解除されました。また、*Htral* の遺伝子発現を抑制することにより、破骨細胞分化に伴う培養上清中の OPG 分解も有意に低下しました。これらの結果から、骨芽細胞が産生・分泌する OPG は、破骨細胞由来の HtrA1 によって分解され、破骨細胞が破骨細胞形成に適した骨微小環境を潜在的に用意していることが示唆されました。

将来、HtrA1 による OPG の分解を特異的に阻害する化合物が開発されれば、その薬物が OPG の分解を阻害して、骨吸収を効率的に抑制することが期待されます。既に骨粗しょう症治療薬として上市されている抗 RANKL 抗体 (デノスマブ) はほぼ同様の作用メカニズムで効果的に骨吸収を抑制しますが、その高額な費用が課題となっています。OPG 分解酵素である HtrA1 を標的とする低分子阻害剤の開発は、骨微小環境における OPG レベルを上昇させ、骨折リスクを軽減させることが期待されます。今後、生体内 (*in vivo*) においても OPG 分解を介した骨吸収調節に HtrA1 が関与している証拠を得ることは重要で、遺伝子改変動物を用いるなど、さらなる研究を重ねてゆく必要があります。

本研究は、大正製薬株式会社、松本歯科大学総合歯科医学研究所との共同研究で行われました。

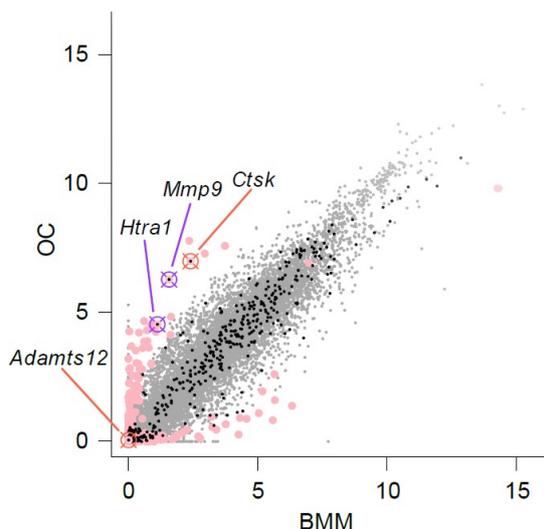


図1. RNA シーケンスによる BMM と OC の発現変動比較解析

BMM および OC における遺伝子発現レベルをそれぞれ横軸および縦軸にプロットした。

灰点：RNA 配列決定分析によって検出された遺伝子。

赤点：BMM よりも OC で大きく変動した遺伝子 (>3 SD)。

黒点：プロテアーゼをコードする遺伝子。

Ctsk: Cathepsin K

Mmp9: Matrix metalloproteinase-9

Htra1: High-temperature requirement A serine peptidase 1

Adamts12: A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 12

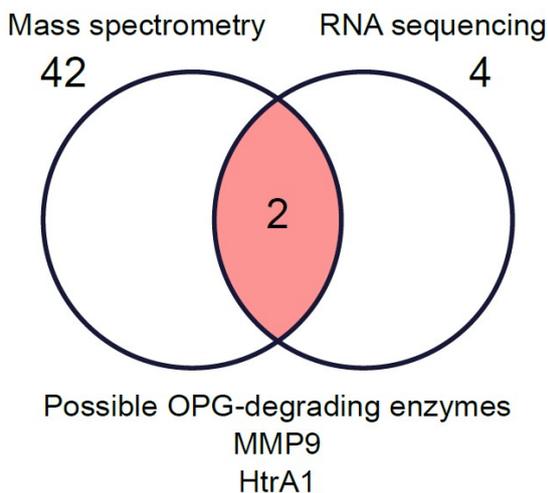


図2. 質量分析および RNA シーケンス解析によって同定された遺伝子間のベン図



	<p>用語解説</p> <p>*1 : RANKL : 骨芽細胞の細胞膜上に存在し、骨髄マクロファージ (BMM) の細胞膜上に存在する RANKL 受容体 (RANK) との結合を介して BMM を破骨細胞に分化させるサイトカイン。</p> <p>*2 : OPG : 主に骨芽細胞が産生・分泌する TNF 受容体ファミリーに属する液性タンパク質で、RANKL と RANK の結合を阻止するおとりの受容体として働く。</p> <p>*3 : HtrA1 : フィブロネクチンなどの細胞外マトリックスタンパク質の分解が報告されているセリンプロテアーゼ。</p> <p>論文タイトル・著者</p> <p>“Murine osteoclasts secrete serine protease HtrA1 capable of degrading osteoprotegerin in the bone microenvironment” (参考訳 : マウス破骨細胞は HtrA1 セリンプロテアーゼを分泌し、骨微小環境において OPG を分解することができる)</p> <p>著者 落合 祥啓、仲地 ゆたか、横尾 友隆、市原 隆弘、エリクソン トーレ、米元 裕貴、加藤 武彦、小縣 旬、藤本 奈津子、小林 泰浩、宇田川 信之、加來 伸介、植木 智一、岡崎 康司、高橋 直之、須田 立雄</p> <p><i>Communications Biology</i> DOI: 10.1038/s42003-019-0334-5</p> <p>問い合わせ先</p> <p>埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 特任教授 須田 立雄 (すだ たつお) 電話番号: 042-984-0412 FAX: 042-984-0349 Email: tasuda@saitama-med.ac.jp</p> <p>ゲノム医学研究センターについて</p> <p>埼玉医科大学・ゲノム医学研究センターは、幹細胞研究や希少疾患研究、がん研究など、それぞれが特徴を持った研究を行っているコア部門と、埼玉医科大学全体が効率よく研究成果を挙げるための中央実験施設、実験動物施設及び RI 実験室、リサーチパーク (2019 年開設予定) などを併設しています。</p> <p>詳しくはウェブサイトをご覧ください。 http://www.saitama-med.ac.jp/genome/</p>
--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------