

学位研究紹介

IGF binding protein 3 は骨組織において BMP2 シグナルを介して、IGF 非依存的に骨形成を抑制する

IGF binding protein 3 independent of IGF inhibits bone formation by antagonizing BMP2

新潟大学医歯学総合病院 冠ブリッジ診療室

江口 香里

Niigata University Medical and Dental Hospital

Kaori Eguchi

【目 的】

IGF1 は骨基質中に最も豊富に存在する成長因子であり、骨芽細胞の骨形成促進を介した骨量の維持に重要な機能を果たしている。これまで IGFBP3 は IGF の運搬タンパクとして機能し、IGF を介して骨形成に関連することが知られているが、近年 IGFBP3 に IGF1 非依存的な機能があることが報告されている^{1),2)}。しかし、骨組織における IGFBP3 の IGF1 非依存的機能に関する報告は非常に少なく、未だ十分に明らかにされていない。本研究の目的は、これまで十分な解析が行われていない骨形成、骨芽細胞分化における IGFBP3 の IGF1 非依存的機能を明らかにし、IGF1/IGFBP3 による骨代謝制御機構解明の一助とすることである。

【方 法】

1. IGFBP3 の骨芽細胞分化抑制機能の検討

8 週齢雄性 C57BL/6 マウスから採取した骨髓細胞 (BMSCs) を使用した。IGFBP3 存在下及び非存在下にて BMP2 による骨芽細胞分化誘導を 48 時間行い、骨芽細胞分化関連遺伝子の発現及び ALP 活性に与える影響をリアルタイム PCR 法及び ALP 活性アッセイで解析した。また、骨芽細胞分化誘導を 2 週間行い、IGFBP3 がその石灰化能に与える影響についてアリザリンレッド染色を用いて解析した。

2. IGFBP3 の BMP2 シグナル抑制機能の検討

Smad Binding Element (SBE) 下流にレポーター遺伝子としてルシフェラーゼを挿入した合成遺伝子 (SBE-Luc) を筋芽細胞株 C2C12 に導入し、IGFBP3 及び BMP2 存在下にて



図 1. アリザリンレッド染色

BMP2 による石灰化亢進を、IGFBP3 が抑制することが示された。

24 時間培養を行い、これらが Smad 関連遺伝子の発現に与える影響についてルシフェラーゼアッセイを用いて解析した。

【結果および考察】

BMSCs に対する骨芽細胞分化誘導条件下において IGFBP3 の添加により、BMSCs の骨芽細胞関連遺伝子の発現量減少、ALP 活性低下および石灰化抑制 (図 1) が確認された。

また、IGFBP3 は BMP2 添加による Smad 系標的遺伝子の発現増強を有意に抑制することが示された。

以上の結果より、IGFBP3 は IGF 非依存的に BMP2 シグナルを介して骨芽細胞分化を抑制する可能性が示唆された。

【結 論】

IGFBP3 が BMP2 による骨芽細胞分化促進を抑制していたことから、IGFBP3 は IGF の結合や安定化、輸送によって骨代謝制御に関わるだけでなく、BMP2 シグナルを抑制することにより、IGF 非依存的に骨芽細胞の分化を抑制するメカニズムの存在が示唆された。

【参考文献】

- 1) Zhong Y et al. IGF binding protein 3 exerts its ligand-independent action by antagonizing BMP in zebrafish embryos. *J Cell Sci*, 124: 1925-1935, 2011.
- 2) Li J et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 modulates osteoblast differentiation via interaction with vitamin D receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 436 (4): 632-637, 2013.