

## 最近のトピックス

### 骨組織におけるヘパラン硫酸鎖の局在に関する免疫組織化学的研究

新潟大学歯学部口腔解剖学第一講座  
中村 浩彰, 小澤 英浩

本研究室では、宇宙空間での無重力下で生じる骨減少の予防、老齢化に伴う骨粗鬆症の予防、治療の必要性などから、骨改造現象の細胞生物学的機構の解明に積極的に取り組んでいる。骨改造は破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成により行われるが、破骨細胞の分化、活性化、骨吸収と骨形成のカップリングなどについて多くの未解決な問題が残されている。

骨を構成する細胞の増殖、分化、活性化は全身的なホルモン、局所的な種々の成長因子により調節されており、骨芽細胞系細胞では骨基質中の Transforming Growth Factor (TGF)- $\beta$ , Bone Morphogenetic Protein (BMP), Fibroblast Growth Factor (FGF), Insulin-like Growth Factor (IGF)-I, II の重要性が指摘されている。また、破骨細胞の分化、活性化においては Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) などのサイトカインの作用のほかに骨芽細胞系細胞との細胞間相互作用が重要な鍵を握っていると考えられている。細胞膜型、細胞外基質型として存在するヘパラン硫酸プロテオグリカンは、1) FGF などのヘパリン結合性成長因子 (HBGF) を局所に保持する reservoir として働くこと、2) これらの成長因子を分解、不活化から防御すること、3) FGF においては高親和性レセプターとの結合にヘパラン硫酸鎖が必須であることが報告され、細胞間相互、細胞基質作用に重要な役割を担っていることが指摘されている。我々はこれらのことに注目し、骨組織におけるヘパラン硫酸鎖の局在について共焦点走査型レーザー顕微鏡、透過型電子顕微鏡を用いて免疫組織細胞化学的に検索を行った<sup>1)</sup>。

ヘパラン硫酸鎖の局在を示す免疫反応は、血管基底膜のほか、間質細胞あるいは骨芽細胞様細胞と前破骨細胞、破骨細胞が接する細胞膜、細胞間基質に認められた。骨芽細胞においてはコラーゲン細線維に接する細胞膜、細胞質突起に認められ、これらの反応は、ヘパリチナーゼ消化により消失あるいは減弱した。包埋前法により、ヘパラン硫酸鎖は、骨芽細胞ではゴルジ装置、破骨細胞ではゴルジ装置、ライソゾーム様構造に局在し、骨芽細胞、破骨細胞のゴルジ装置でヘパラン硫酸鎖が付加されることが示唆された。

骨芽細胞はフィブロネクチン (FN) などの接着タンパクを介して骨基質と接着していると考えられてきた

が、今回の結果より細胞膜のヘパラン硫酸鎖に由来する陰性荷電によっても骨基質に接着している可能性が示唆された。FN に存在するヘパリン結合部位、コラーゲン結合部位は細胞基質間接着およびコラーゲン細線維の配列を規定するために重要な役割を担うと考えられる。

破骨細胞系細胞と間質細胞との細胞間に存在するヘパラン硫酸鎖も細胞間相互作用において重要な役割を果たしていると思われる。骨芽細胞系細胞である MC3 T3-E1 に特異的に発現している Osteoblast Specific Factor (OSF-1) が HBGF-8 と同一であること<sup>2)</sup>、骨吸収活性因子がプロテオグリカンに結合して存在する報告<sup>3,4)</sup> などから考えると、骨組織に存在するヘパラン硫酸鎖は局所因子を保持し、破骨細胞の分化、活性化のための微小環境形成に重要な役割を担っている可能性が強い。さらに、ヘパラン硫酸鎖はヘパリン結合部位を持つ細胞接着タンパクであるフィブロネクチン (FN)、ビトロネクチン (VN) をも保持する可能性があり、破骨細胞の basolateral 細胞膜のビトロネクチンレセプターを介した細胞間接着にも関与することが推測される。

近年、さまざまな分野においてサイトカイン、接着タンパクなどに関した細胞間、細胞基質作用の基礎的研究が盛んに行われてきている。近い将来このような概念は、歯周疾患の骨吸収メカニズムの解明あるいは予防、治療法にも応用されていくものと思われる。

### 参考文献

- 1) Nakamura, H. and Ozawa, H.: Immunohistochemical localization of heparan sulfate proteoglycan in rat tibiae. *J. Bone Miner. Res.* 9:1289-1299, 1994.
- 2) Tezuka K. et al.: Isolation of mouse and human cDNA clones encoding a protein expressed specifically in osteoblasts and brain tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 173:246-251, 1990.
- 3) Fuller, K. et al.: Osteoclast resorption-stimulating activity is associated with the osteoblast cell surface and/or the extracellular matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 181:67-73, 1991.
- 4) Ishii, T, et al.: Estrogen stimulates the elaboration of cell/matrix surface-associated inhibitory factor of osteoclastic bone resorption from osteoblastic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 191:495-502, 1993.