

| | |
|---------|---|
| | さわかみ きみひこ |
| 氏名 | 澤上公彦 |
| 学位 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 新大院博(医)第160号 |
| 学位授与の日付 | 平成19年 3月22日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 |
| 博士論文名 | The Wnt Co-receptor LRP5 Is Essential for Skeletal Mechanotransduction but Not for the Anabolic Bone Response to Parathyroid Hormone Treatment (Wnt Co-receptor である LRP5 はメカニカルストレスによる骨形成 においては必須であるが, PTH による骨形成においては必須 ではない) |
| 論文審査委員 | 主査 教授 遠藤直人 副査 教授 柴田実 副査 教授 牛木辰男 |

博士論文の要旨

【はじめに】近年, Lrp5 による骨量制御が注目されている。同遺伝子の欠損型突然変異が若年より骨粗鬆症を示す osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG) を発症させ、同遺伝子の別変異は反対に高骨密度を示すことが解明された。Lrp5 がどのような機序で骨量を制御するのかは、まだ不明な点が多い。しかし、OPPG 患者の特徴である著明に減少した海綿骨そして非常に薄い骨皮質を伴った細い長管骨は、廃用性骨粗鬆症と類似していること、同遺伝子欠損マウスも同様の骨表現型を示すことより、Lrp5 のメカニカルストレスへの関与が注目されている。そこで、同遺伝子欠損マウス(Lrp5KO)の骨量、構造特性及び力学特性を解析するとともに、Lrp5KO のメカニカルストレスによる骨形成能を *in vivo* 及び *in vitro* で評価し、実際に Lrp5 がメカニカルストレスによる骨形成に関与するかどうか、そしてその機序を検討した。

【方法】骨量及び構造特性の解析には、pDXA 及びマイクロ CT を用いた。力学特性の解析には、大腿骨に対しては3点曲げ試験を、第5腰椎に対しては圧縮試験を行った。In vivo においては、尺骨負荷 (ulna loading) モデルを用いて形態計測学的解析を行った。16週齢マウスを用いて、3種類の負荷強度群に分け、2Hz, 60 cycles/day で3日間負荷 (loading) した後、骨形成速度(BFR)を算出した。In vitro では、新生マウスより採取した頭頂骨由来細胞に flow chamber を用いて 12dynes/cm² の fluid shear stress を細胞に与えた後に、シグナル分子の発現を ATP assay, ELISA, Western blotting にて解析した。さらに、メカニカルストレス以外に対する骨形成能を調べるために PTH (40 µg/kg/日; 5日間/週) を4週間投与し、大腿骨における骨量変化を評価した。

【結果】骨量の縦断的解析においては、Lrp5KOは4週齢よりWT（野生型）に比べて有意に低下。16週齢においてはLrp5KOで23%低下していた。また骨量部位別解析においては、WTと比べてLrp5KOの頭蓋骨は18%、脊椎は25%、大腿骨においては28%減少と荷重部においてより大きな低下が見られ、Lrp5とメカニカルストレスとの関連性が示唆された。大腿骨骨幹部中央の断面2次モーメントにおいては、Lrp5KOは54%低下していた。海綿骨微細構造においては、Lrp5KOにおいて骨梁数（trabecular number）及び骨梁幅（trabecular thickness）の減少に伴い骨量（bone volume fraction）が大腿骨で81%低下、第5腰椎で43%低下していた。さらに骨梁の形状は、plate様構造の多いWTに比し、Lrp5KOにおいてはplate様からrod様に変化していた。力学強度においては、Lrp5KOのultimate forceは大腿骨で44%低下、第5腰椎で51%低下していた。In vivoでは、WTの尺骨において、負荷により新たな層板骨（lamellar bone）の形成が明らかであったが、Lrp5KOにおいては、2重標識領域は著明に限定され、負荷による骨形成は著明に抑制されていた。Lrp5KOの尺骨負荷に対する皮質骨のBFRは、WTに比べ88%と減少していた。In vitroでは、ATP、PGE2、ERK1/2といった早期反応性の分子においては、Lrp5KOとWT間に有意差は認められなかったが、非コラーゲン性骨基質蛋白であるOPNにおいては有意な低下が認められた。さらに、PTH投与による骨量増加においては、Lrp5KOとWT間に有意差は認められなかった。

【考察】Lrp5の機能喪失型変異は、メカニカルストレスによる骨形成能を著明に低下させ、廃用性の表現型を引き起こしていると考えられた。よって、本遺伝子がメカニカルストレスによる骨形成作用に対して重要な役割を担っている可能性が高い。さらに、Lrp5を介するシグナルは、力学刺激伝導（mechanotransduction）における下流域で作用している可能性が高いものと考えられた。

（論文審査の要旨）

Lrp5 遺伝子の欠損型突然変異が若年より骨粗鬆症を示す osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG) を発症させることが知られているが、どのような機序で骨量を制御するのかは、不明な点が多い。申請者らは同遺伝子欠損マウス (Lrp5KO) の骨量、構造特性及び力学特性を解析し、Lrp5 がメカニカルストレスによる骨形成に関与するのかどうか、そしてその機序を検討した。

その結果、Lrp5KO マウスの骨量は4週齢、16週齢ともにWT（野生型）に比して低下していた。部位別解析においては、荷重部位でより大きな骨量低下が見られ、Lrp5 とメカニカルストレスとの関連性が示唆された。さらに大腿骨骨幹部中央の断面2次モーメントの低下、海綿骨微細構造の劣化、力学強度の低下が認められた。In vivoでは、loading 負荷による骨形成は著明に抑制されており、In vitro の検討においても骨形成の低下が認められた。

以上の結果より、Lrp5 の機能喪失型変異は、メカニカルストレスによる骨形成能を著明に低下させ、廃用性の表現型を引き起こしていると考えられた。よって、本遺伝子がメカニカルストレスによる骨形成作用に対して重要な役割を担っている可能性が高いと考えられる。

本研究は、Lrp5 遺伝子のメカニカルストレスによる骨形成作用における役割を明らかにしており、この点に、学位論文としての価値を認める。