

第 291 回松本歯科大学大学院セミナー

日 時: 2014 年 4 月 18 日(金) 18 時 00 分~19 時 30 分

場 所: 実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナールーム

演 者: 古屋 優里子 氏(オリエンタル酵母工業株式会社 長浜生物科学研究所・研究員)

タイトル: 分化誘導ペプチド W9 による骨芽細胞及び軟骨細胞分化作用とそのメカニズム解析

【はじめに】9 個のアミノ酸で構成される合成ペプチド、WP9QY ペプチド (Fig. 1、以下 W9 と略称する) は、破骨細胞形成抑制作用をもつことが知られていたため、我々は、新規の骨形成ペプチドをスクリーニングする際のネガティブコントロールとして W9 を使用したところ、W9 には骨形成作用があることを見出した。さらに、骨芽細胞だけでなく、軟骨細胞の分化にも関与していることが示唆されたので、以下の検討を行った。

【方法と結果】まず、*in vivo*での骨形成作用の有無を検討するため、W9 を正常マウスに投与した結果、W9 は *in vivo*においても骨形成作用を示し、特に皮質骨特異的に骨形成率を上昇させることがわかった。そこで、W9 の骨形成作用のメカニズムについて、以下の検討を行った。

①W9 を作用させたマウス骨芽前駆細胞 MC3T3-E1 を用いて GeneChip 解析を行った結果、W9 は ALP、BMP-4、オステオカルシン、IGF-1 及び CTGF といった骨形成関連因子の発現を上昇させていた。

②MC3T3-E1 細胞を用いた阻害剤及びリン酸化抗体によるウエスタンブロット解析を行った結果、p38 及び BMP シグナルである smad1/5/8 経路が、W9 のシグナル伝達経路として関与していることが確認できた。¹⁾

③W9 は RANKL に結合することが知られているので、骨芽前駆細胞や間葉系幹細胞 (MSCs) 表面にある膜型 RANKL をノックダウン、もしくはノックアウトさせた細胞を作製した結果、W9 による骨分化に膜型 RANKL が関与している可能性が示唆された。

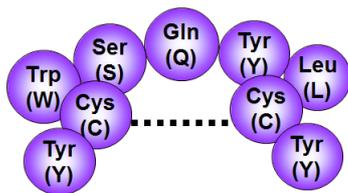
一方、ヒト MSCs 及びマウス軟骨前細胞 (ATDC5 細胞) を用いた 2 次元培養において、W9 は軟骨細胞分化を促進させることがわかった。また、ヒト MSCs を用いた 3 次元培養系に W9 を添加すると、ペレットサイズが増大し、細胞内部の軟骨基質が増加することが確認された。²⁾

さらに、ATDC5 細胞及び C3H10T1/2 細胞を用いて、W9 のシグナル伝達経路を検討したところ、p38 のリン酸化を検出した。

【まとめ】我々は、W9 が破骨細胞形成抑制作用に加えて、骨形成作用及び軟骨細胞分化作用という相反する機能を有することを明らかにした。また、W9 の骨形成に関するシグナル伝達は、ターゲット細胞上の膜型 RANKL を介していることを示唆する結果を得た。今後は、W9 の軟骨細胞分化に関するシグナル伝達経路について解明を進めたい。

なお、W9 は、弊社から「分化誘導ペプチド W9」として販売されている。

- 【参考文献】 1) Furuya Y. et al. J Biol Chem. 2013 Feb 22; 288(8):5562-71.
2) ASBMR 2001年 SU0088



【Fig. 1】

担当：硬組織疾患制御再建学講座 中村 美どり