

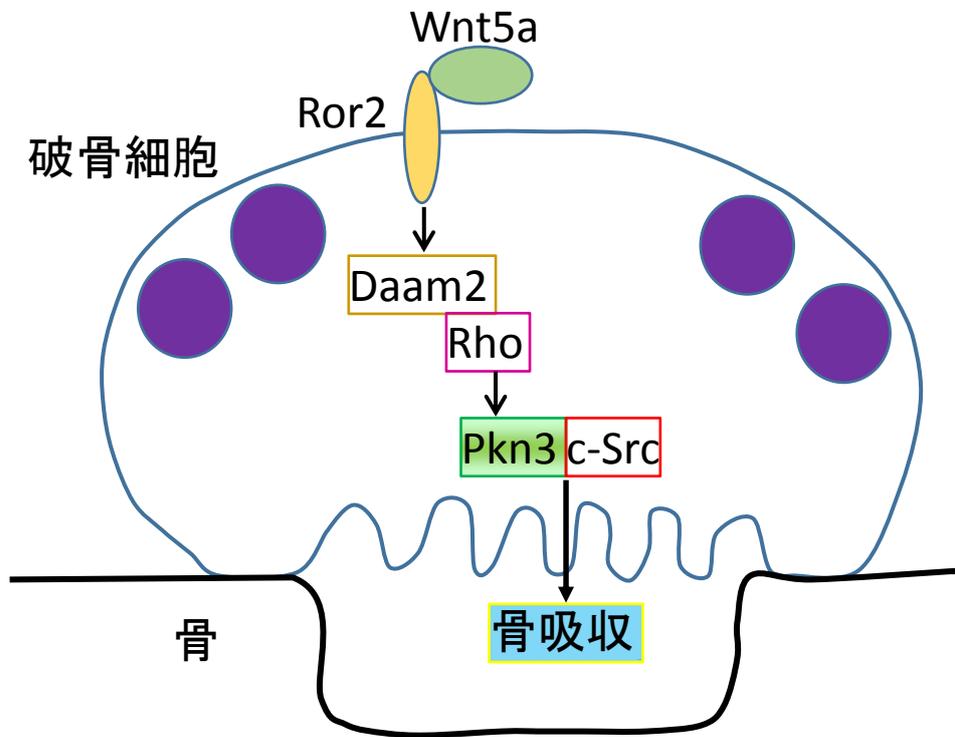
Uehara S, Udagawa N, Mukai H, Ishihara A, Maeda K, Yamashita T, Murakami K, Nishita M, Nakamura T, Kato S, Minami Y, Takahashi N, and Kobayashi Y: Protein kinase N3 promotes bone resorption by osteoclasts in response to Wnt5a-Ror2 signaling.

Sci Signal 10: eaan0023, 2017

プロテインキナーゼ N3 は、Wnt5a-Ror2 シグナルに応答して破骨細胞による骨吸収を促進する

我々のグループは、サイトカイン Wnt5a が破骨細胞前駆細胞の共受容体 Ror2 を介して破骨細胞への分化を促進することを明らかにした(2012, Nat Med)。Ror2 は成熟破骨細胞にも発現している。そこで我々は、破骨細胞の骨吸収機能における Ror2 シグナルの役割を検討した。破骨細胞特異的に Ror2 を欠損したマウス(Ror2 cKO マウス)と対照マウスの骨を、マイクロCTを用いて解析したところ、Ror2 cKO マウスの海綿骨量は対照マウスより多いことが分かった。さらに詳細な解析により、この骨量の増加は、骨吸収の低下によるものであることを明らかにした。破骨細胞の骨吸収は、アクチン細胞骨格の再編成によるリング状構造(アクチンリング)の形成を必要とする。Ror2 cKO マウスの破骨細胞を培養し、アクチンを染色すると、アクチンリングが形成されていなかった。また、骨吸収活性も対照マウスの破骨細胞と比べて顕著に低下していた。Ror2 の下流で、どのようなタンパク質が活性化されることで、アクチンリング形成と骨吸収が促進されるかについて、解析を進めた。培養した破骨細胞に Wnt5a を添加すると、Ror2 依存的に低分子量 G タンパク質 Rho が活性化された。shRNA を用いた遺伝子ノックダウンの実験から、この活性化にはアダプタータンパク質 Daam2 が必要であることを明らかにした。Rho の下流で活性化されるタンパク質は 13 種類知られている。それらの遺伝子発現を破骨細胞前駆細胞と破骨細胞で比較したところ、プロテインキナーゼ N3 (Pkn3) の発現が破骨細胞で有意に高いことを見出した。Pkn3 が生体において骨吸収に関与するかを明らかにするため、Pkn3 を欠損したマウス(Pkn3 KO マウス)の骨を解析した。Pkn3 KO マウスは野生型マウスに比べて高骨量を呈し、それは、骨吸収の低下によるものであることを見出した。培養した破骨細胞での実験により、Pkn3 KO 破骨細胞は、アクチンリングが形成されず、骨吸収活性も低いことが明らかになった。Pkn3 による骨吸収促進機構を明らかにするため、Pkn3 と結合するタンパク質を免疫沈降法を用いて探索し、骨吸収に重要であることが知られている c-Src と結合することを見出した。Pkn3 と c-Src の結合は Ror2 依存的であること、Ror2 cKO 破骨細胞及び Pkn3 KO 破骨細胞の c-Src 活性は低いことも明らかにした。

以上の結果から、Wnt5a-Ror2 シグナルによる破骨細胞の骨吸収促進は、Daam2-Rho-Pkn3-c-Src というシグナル経路を介するものであると結論づけた。Pkn3 の阻害剤は、新たな骨吸収抑制薬の開発につながる可能性がある。



本研究成果の模式図

サイトカイン Wnt5a は破骨細胞に発現する共受容体 Ror2 に結合するとアダプタータンパク質 Daam2 を介して Rho を活性化する。Rho の下流では Pkn3 が活性化され、c-Src の活性化、骨吸収の促進につながる。詳細は本文を参照

(松本歯科大学・上原俊介)