

破骨細胞における酸性スフィンゴミエリナーゼの機能解析

錫林其其格

奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科細胞増殖学（竹家）研究室
〒630-0192 奈良県生駒市高山町 8916 番地の 5（けいはんな学研都市）

私（錫林其其格）は、平成 20 年 3 月末日まで、奈良女子大学大学院博士前期課程化学専攻（池原研究室）で「タンパク質の耐熱性獲得機構に関する研究」に従事し、平成 19 年度の「生命の起原および進化学会」での学会発表を行いました。その後、平成 20 年 4 月に奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科に進学し、細胞増殖学（竹家）研究室で破骨細胞における酸性スフィンゴミエリナーゼの機能解析を行っています。ここでは、以下にのべますように、その研究内容について報告したいと思います。

破骨細胞は骨吸収を担う唯一の細胞として骨代謝の中心的な役割を果たしている。また、その分化（異常）や機能の破綻は骨粗しょう症などの疾患に関係している。そこで破骨細胞分化ならびにその機能制御機構を明らかにすることは骨代謝を理解するうえで非常に重要な課題となっている。我々の研究室の以前の研究から、破骨細胞の分化には転写因子 NFAT2 が必須であることが明らかになった。さらに、NFAT2 の標的候補遺伝子の探索を DNA チップ解析で行った結果、候補遺伝子の一つとして ASM (Acid Sphingomyelinase : 酸性スフィンゴミエリナーゼ) が NFAT2 の下流で発現調節されていることが見出されている。ASM は酸性条件下でスフィンゴミエリンを加水分解し、セラミドを産生するスフィンゴミエリナーゼであり、リソソームに局在することが報告されている。また、スフィンゴ脂質とその代謝物は細胞生存、細胞死を含む様々な生命現象で重要な役割を果たしている。さらに、破骨細胞におけるリソソームは形質膜へ輸送され、骨吸収に必須な波状縁 (ruffled boarder) を形成する可能性が考えられている。以上の知見に基づき、ASM が破骨細胞分化、骨吸収活性、およびアポトーシスに関与する可能性に着目し、私は破骨細胞分化過程における ASM の機能解析を行っている。

今までの私の研究で、初代骨髄マクロファージを用いた *in vitro* 分化誘導系における ASM の発現変動プロファイルをリアルタイム PCR 法により検討した結果、ASM は RANKL 刺激後 48~96 時間後に発現誘導されること、またその発現誘導は NFAT2 の核内移行阻害剤であるシクロスポリン A (CsA) により抑制されることを確認した。また、初代骨髄細胞を用いて RNA 干渉法により ASM ノックダウン細胞を作成し、破骨細胞への分化を検討したところ ASM ノックダウン細胞はコントロール細胞より TRAP 陽性の多核破骨細胞への分化が促進されていることが分かった。これらの結果から ASM が破骨細胞への分化を抑制するか寿命をコントロールすることが示唆された。

今後の研究計画としては以下の実験を予定している。

- ① ASM と破骨細胞への分化の関係を明らかにするために、破骨細胞分化過程における内在性の ASM タンパク質の発現や局在性を検討する
- ② ASM の骨吸収活性への影響を検討するため、ASM 強制発現細胞とノックダウン細胞を用いて骨吸収活性を測定する
- ③ ASM の反応産物であるセラミドがアポトーシスを誘導することから、これら細胞における細胞の生存活性を検討する