

P06

破骨細胞分化にはNF- κ B2のプロセッシングとRelBの核移行が関与する

○谷口 礼、福島 秀文*、高村 伊都子、
自見 英治郎*、牧 憲司
(九歯大・小児歯, *九歯大・生化学)

【目的】

NF- κ B非古典的経路に重要なNIK遺伝子に不活型変異をもつ aly/aly マウスは、NF- κ B2のp100からp52へのプロセッシングが阻害され、破骨細胞形成が抑制される。一方、p100とp52の存在しないNF- κ B2遺伝子欠損マウス(NF- κ B2 K0)では野生型と同程度の破骨細胞が存在することからp100のプロセッシングが破骨細胞形成に重要な役割をしていることが考えられる。そこで破骨細胞分化におけるp100のプロセッシングとp100またはp52とダイマーを形成し、NF- κ Bシグナルに重要なRelBの役割について検討した。

【方法】

1、野生型、 aly/aly およびNF- κ B2 K0マウスの破骨細胞分化と細胞内シグナリングの相関の検討：各々のマウスより骨髓細胞を調製し、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)存在下で3日間培養し、破骨細胞前駆細胞を誘導した。さらにReceptor Activator of NF- κ B Ligand(RANKL)で刺激し、経時的に細胞質タンパク質および核タンパク質を調製し、電気泳動をおこなった。NF- κ Bのp65、RelB、p100/p52サブユニットおよびI κ B α の発現と、破骨細胞分化に必須な転写因子であるc-FosおよびNFATc1の発現を各々に対する抗体を用いてウエスタンブロット法で検討した。

2、破骨細胞分化におけるRelBの役割の検討：レトロウィルスベクターを用いて、 aly/aly マウスの骨髓細胞にGFPを共発現するRelB遺伝子を遺伝子導入した。蛍光顕微鏡でGFPの発現を確認した後にM-CSFおよびRANKL存在下で3日間培養し、形成された破骨細胞数を計測した。また、p100からp52へのプロセッシングを検討した。

3、RelBとp100のプロセッシングの相関の検討：NF- κ B2 K0マウス由来破骨細胞前駆細胞にプロセッシングされないp100の変異体であるp100 Δ GRRを同様に遺伝子導入し、形成された破骨細胞数を計測した。

4、RelBとNIKの下流因子IKK α の相関の検討：野生型マウス由来破骨細胞前駆細胞に不活性型IKK α (IKK α AA)およびRelBを同様に遺伝子導入し、形成された破骨細胞数を計測した。

【結果】

1. aly/aly マウス由来の骨髓細胞では、破骨細胞形成が抑制され、p100のプロセッシングおよびRelBの核移行が見られなかった。
2. aly/aly マウス由来破骨細胞前駆細胞にRelBを過剰発現させると破骨細胞形成の抑制が解除され、p100からp52へのプロセッシングが誘導された。
3. NF- κ B2 K0マウスでは破骨細胞形成に異常は見られなかったが、p100 Δ GRRを過剰発現すると破骨細胞形成が抑制され、p100 Δ GRRにさらにRelBを共発現しても抑制効果は回復しなかった。
4. 野生型マウス由来破骨細胞前駆細胞にIKK α AAを過剰発現すると破骨細胞形成が抑制され、IKK α AAにさらにRelBを共発現すると破骨細胞形成の抑制が解除された。

【考察】

破骨細胞の形成にはRelBの核移行が関与し、プロセッシングされないp100がRelBの核移行を阻害していると考えられる。

aly/aly マウス由来破骨細胞前駆細胞にRelBを過剰発現させると破骨細胞形成の抑制が解除され、p100からp52へのプロセッシングが起こること、さらにIKK α AAの過剰発現による破骨細胞形成の抑制が、RelBの共発現が破骨細胞形成の抑制が解除することから、RelBがNIK下流分子を活性化することが示唆された。

【参考文献】

Maruyama T et al. Processing of the NF- κ B2 precursor p100 to p52 is critical for RANKL-induced osteoclast differentiation. *J Bone Miner Res.* 2010 25:1058-1067.