

研究結果報告書

2018年4月27日

＜研究課題＞ 骨免疫・筋免疫を介するエストロゲンの骨粗鬆症・サルコペニア予防及び治療効果の解明

代表研究者 東京都健康長寿医療センター研究所 研究員 東 浩太郎

【まとめ】

エストロゲンは、骨折予防効果、筋持久力の亢進効果が知られている。本研究では、独自に同定したエストロゲン応答遺伝子 EBAG9 の骨・筋代謝に対する影響を評価することを目的とした。遺伝子改変動物の解析から、EBAG9 は骨保護効果を有することが示された。また、EBAG9 は、細胞から分泌されるエクソソームを介して免疫系の抑制に働く新しいメカニズムを解明し、骨免疫を介した骨代謝への影響が推測された。

1. 研究の目的

1-1 エストロゲン応答遺伝子 EBAG9 の骨代謝に及ぼす影響の評価

女性ホルモンであるエストロゲンは、骨折予防効果が示されている。一方で、私たちはエストロゲン受容体陽性ヒト乳がん細胞の解析により、エストロゲン応答遺伝子 EBAG9 を同定し、その生理的な役割を知るためにその欠損マウスを作成した。この、私たちが独自に同定したエストロゲン応答遺伝子 EBAG9 が、骨保護効果を担う因子であるかどうかの検討を本研究の目的とした。

1-2 エストロゲン応答遺伝子 EBAG9 の骨免疫を介する作用機序の検討

私たちの研究室における EBAG9 の解析の結果、EBAG9 は、悪性腫瘍の免疫寛容に参与しており、Ebag9 欠損マウスに接種した腫瘍が増大しにくいことを明らかにしている

(Miyazaki T et al. Oncogenesis 3, e126, 2014)。このことより、EBAG9 は骨代謝に対しても免疫系を介して影響を及ぼす可能性があると考えられ、EBAG9 の免疫系に及ぼす影響およびそのメカニズムの解明を本研究の目的の一つとした。

2. 研究方法と経過

2-1 Ebag9 欠損マウスの骨表現型の解析

7~8 カ月齢の Ebag9 欠損マウスおよび対照となる野生型マウスの大腿骨の骨密度、マイクロ CT 解析、力学試験を行い、脛骨の骨形態計測を行った。

2-2 EBAG9 の免疫系へ及ぼす影響の解析

EBAG9 を高発現する前立腺がん細胞株 LNCaP よりエクソソーム（細胞外分泌小胞）を単離し、T リンパ球株 MOLT4 の活性および発現遺伝子を評価した。

3. 研究の成果

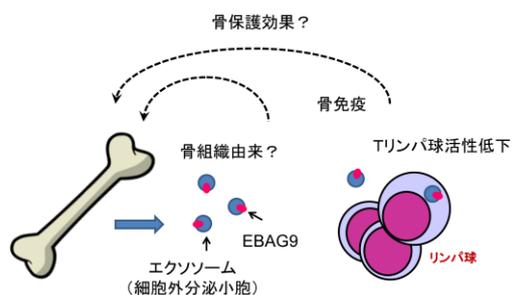
3-1 Ebag9 欠損マウスの骨表現型の解析

メスの EBAG9 欠損マウスにおいては、コントロールの野生型マウスに比較して DXA 法にて測定した骨密度が有意に低下していた。また、大腿骨遠位骨幹端部海綿骨のマイクロ CT における解析において、EBAG9 欠損マウスにおいては、骨量 (BV/TV) および骨梁幅の有意な減少を認めた。力学試験においては、EBAG9 欠損マウスの大腿骨は野生型の大腿骨に比べ骨折に要する荷重が小さく、脛骨の骨形態計測においては EBAG9 欠損マウスにおいて骨量低下および骨梁の菲薄化を認め、骨形成速度の低下を認めていた。この結果から、EBAG9 が骨保護効果を有していることが推測された。

3-2 EBAG9 の新規作用機序の解析

EBAG9 を高発現する細胞由来のエクソソーム（細胞外分泌小胞）により、MOLT4 細胞の細胞障害活性は低下し、EBAG9 抗体によりその作用は打ち消されることが示された。また、EBAG9 を高発現する細胞由来のエクソソームにより、MOLT4 細胞におけるインターフェロンガンマ、インターフェロン受容体 10、グランザイム B、ケモカイン受容体 3 の発現が低下した。このことより、EBAG9 はエクソ

ームを介してリンパ球に取り込まれ、免疫抑制作用を有することが推測された (図)。



4. 今後の課題

EBag9 欠損マウスにおける骨量減少のメカニズムの解明が現在の課題である。エクソソームによる EBAG9 の細胞間の受け渡しがあることを意識した実験系により、破骨細胞への

分化能を評価する必要があると考えられる。また、破骨細胞への分化能を有するマウスの単核球 RAW 細胞において、EBag9 が発現していることをウエスタンブロッティングにて確認しており、破骨細胞における EBAG9 の機能解析も同時に進めていく予定である。また、EBAG9 欠損マウスの運動能力および筋表現型の解析を今後進めていく予定である。さらに、EBag9 の他にも私たちは独自のエストロゲン応答遺伝子を同定しており、それらが筋骨格系に及ぼす影響の解析も進めている。

5. 研究成果の公表方法

EBag9 欠損マウスの骨表現型に関する成果は 2018 年 10 月の第 20 回骨粗鬆症学会にて発表予定。その他の成果も含め、研究が終了し次第、論文発表予定。

以上