

## 骨を溶かす細胞(破骨細胞)が分化する過程で転写因子 MafB は何を行うのか

松永 有里菜 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 高橋 智 (筑波大学 医学医療系)

### 【背景・目的】

我々の体内では、常に新しい骨が作られ、同時に古い骨が破壊されている。このサイクルは骨代謝と呼ばれ、骨芽細胞と破骨細胞がこの働きを担っている。骨芽細胞は骨形成に、破骨細胞は骨融解に働いている。骨代謝のバランスの崩れは様々な骨疾患を発症させると考えられており、その中でも破骨細胞による骨融解方向への傾きは、骨粗鬆症や骨融解症の発症への主要な原因となっており、この破骨細胞の働きについて知ることは骨疾患を改善させる上で重要であると考えられる。

破骨細胞は血液細胞由来であり、近年では、マクロファージや樹状細胞と同じ起源の未分化な細胞から破骨細胞が分化することが明らかとなってきたが、詳細は明らかになっていない。その分化には M-CSF (macrophage colony stimulating factor) と RANKL (receptor activator for nuclear factor- $\kappa$ B ligand) の2つのサイトカインが必須である。また破骨細胞は多核の細胞であり、分化の最終段階で単核の細胞同士が融合することで多核の破骨細胞へと分化する。

MafB は大 Maf 転写因子群に属する bZip 型転写因子であり、ホモ二量体あるいはヘテロ二量体を形成して標的遺伝子の Maf 認識配列 (MARE) に結合し、転写制御を行う。

先行研究より、MafB は破骨細胞分化に対して抑制的に働くことが報告されているが、その詳しい分子メカニズムや働きについては未だ解明されていない。そこで本研究では、転写因子 MafB に着目し、破骨細胞分化における機能メカニズムを明らかにすることを目的とした。

本研究では *Matb* 欠損マウスを用いて破骨細胞分化における MafB の働きについて検証した。

### 【材料・方法】

#### 1. マウス

本研究にあたり、2種類の *Matb* 欠損マウスを用いた。

##### (1) *Matb*-GFP ヘテロノックインマウス

当研究室にて作成されたマウスで、*Matb* 遺伝子座に GFP 遺伝子がノックインされており、MafB が発現する細胞で GFP が発現する。

##### (2) *Matb* コンディショナルノックアウトマウス

*Matb*<sup>fl/fl</sup> マウスに Cre loxP システムにより血液細胞のみで MafB を欠損させたマウス (*Matb*<sup>fl/fl</sup> :: Tie2-Cre、以下 *Matb* cKO マウスと略)。

#### 2. 破骨細胞培養実験

*Matb* cKO マウスと野生型マウスから骨髄を取り出し、M-CSF と RANKL を加えて破骨細胞へと培養することでその違いについて観察した。染色には破骨細胞マーカーである TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase) を用いた。

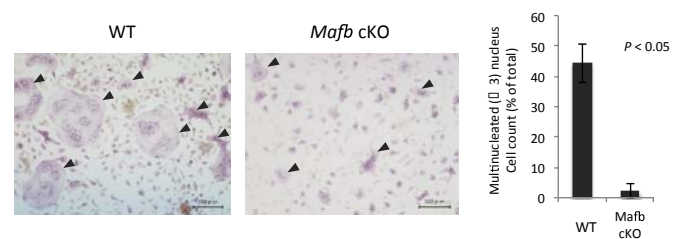
#### 3. *Matb*-GFP ヘテロノックインマウスを用いた解析

*Matb*-GFP ヘテロノックインマウスの骨髄を培養し、破骨細胞分化過程において MafB がどのように発現しているのか、GFP を用いて観察した。

### 【結果】

#### 1. 破骨細胞分化培養実験

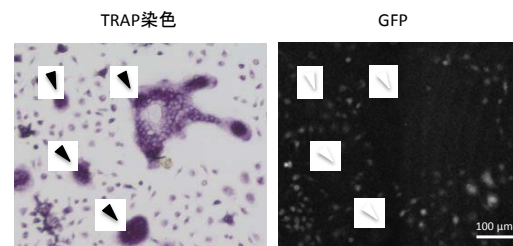
*Matb* cKO マウスでは野生型マウスと比べて多核の破骨細胞の数が優位に減少していた。しかし一方で *Matb* cKO マウスでは単核の破骨細胞は観察された。つまり、*Matb* cKO マウスではほとんどの細胞が単核の破骨細胞であった。



矢頭は多核 (3 個以上) の破骨細胞を示す。

#### 2. *Matb*-GFP ヘテロノックインマウスを用いた解析

単核の破骨細胞では GFP の発現が観察されたが (右図白色)、多核の細胞ではその発現は観察されなかった。つまり、単核の破骨細胞では MafB の発現が観察されたが、多核になるとその発現が減少していることを示している。



矢頭は多核 (3 個以上) の破骨細胞を示す。

### 【考察と今後の予定】

以上の結果より、*Matb* cKO マウスでは多核の破骨細胞の減少が見られ、また多核の細胞になると MafB の発現が減少していた。これらのことから、MafB は分化の最終段階で起こる融合および多核化に関係している可能性があり、これまでに報告されている破骨細胞分化抑制と反対の働きを持つことを示唆している。

今後は実際に MafB が破骨細胞の融合に働いているのか、融合に関連する遺伝子の発現などを *Matb* cKO マウスを用いて解析していく予定である。

