

主論文の要旨

Activated FGFR3 suppresses bone regeneration and bone mineralization in an ovariectomized mouse model

〔 卵巣摘出後マウスにおいてFGFR3の恒常的活性化は
骨新生と骨石灰化能を低下させる 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
運動・形態外科学講座 整形外科学分野

(指導：今釜 史郎 教授)

川島 至

【緒言】

閉経後骨粗鬆症は骨折のリスクが高く、骨新生能も低下し骨折の治癒が遅延する。中高年者の有病率が高いことから全世界で問題となっている。雌のマウスに対して卵巣摘出術(ovariectomy : OVX)を施行することで閉経後骨粗鬆症マウスモデルを作成し、骨石灰化能を定量できる。また、骨延長は創外固定器を用いて骨切り部を緩除に延長することにより新生骨を誘導する手術手技であり新生骨量を評価することが可能である。

Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3)は軟骨細胞に発現し軟骨内骨化を加速することで若年期の骨新生量は増加するが、FGFR3 が亢進すると骨石灰化能は低下することが知られている。しかし、FGFR3 シグナルが閉経後において骨新生能と骨石灰化能に及ぼす影響は解明されていない。本研究は、*Col2a1* プロモーター下に FGFR3 の恒常的活性型変異が導入されたマウス(Fgfr3 マウス)を使用して、OVX した骨延長マウスモデルを作成することにより、閉経後の骨新生能および骨石灰化能に対する FGFR3 シグナルの影響を検討することである。

【方法】

OVX または sham 手術を、8 週齢の雌の Fgfr3 マウスおよび野生型マウスに施行した(Fig. 1)。OVX 手術の 8 週間後に Bone Mineral Density (BMD)をマイクロCTを用いて測定した後、脛骨骨切りおよび創外固定器の設置手術をした。手術後 5 日間の待機後、24 時間毎に 0.2mm の骨延長を 9 日間行った。延長部の仮骨の骨性架橋を軟性 X 線を用いて評価した。また骨延長部の新生骨量はマイクロCTを用いて Bone volume(BV)、BV/Tissue volume(TV)を計測することで評価した。骨延長部の新生骨量は、骨延長終了 7 日後に Villanueva Goldner (VG)染色を行い組織学的にも評価した。また、骨延長部新生骨部の TRAP 染色を行い破骨細胞数の定量を行った。各群のマウスにおける血清カルシウム、リン、アルカリフォスファターゼ(ALP)、RANKL の測定を行った。

OVX または sham 手術の 8 週間後の各マウスに由来する骨髄由来間葉系幹細胞(bone marrow-derived stem cell : BMSC)の骨芽細胞分化能を ALP 染色で、また骨石灰化能をアリザリンレッド染色で評価した後、これに FGFR3 シグナルのインヒビターであるメクロジンを投与して染色性を評価した。

【結果】

Fgfr3 マウスおよび野生型マウスの両群で OVX 後に体重が増加した。OVX 後に BMD の減少を確認したが、Fgfr3 マウスでは野生型マウスに比してさらに BMD は減少した(Fig. 2)。

Fgfr3 マウスおよび野生型マウスの両群で OVX により骨延長後の仮骨形成が有意に減少し、骨延長部の新生骨量は Fgfr3 マウスで野生型マウスに比してさらに減少した(Fig. 3)。

組織学的評価でも、両群で OVX により新生骨量は低下し、Fgfr3 マウスでさらに新生骨量が低下した (Fig. 4)。また、野生型マウスでは OVX 後破骨細胞数は増加し、血清 ALP 濃度と RANKL も増加した (Fig. 5)。

Fgfr3 マウスおよび野生型マウスの両群で OVX 後のマウス由来の BMSC では骨芽細胞分化能と骨石灰化能はいずれも低下した (Fig. 6)。Fgfr3 マウスでは、野生型マウスに比してさらに骨芽細胞分化能と骨石灰化能の低下を認めた。FGFR3 シグナルのインヒビターであるメクロジンは、これらの骨石灰化能低下を劇的に改善させた。

【考察】

本研究では OVX 及び FGFR3 シグナルの活性化は骨密度を低下させることを示した。また、OVX 後のマウスでは骨延長後の骨新生能は低下し、FGFR3 シグナルの亢進により骨新生能と骨密度はさらに低下した。これまでの報告と同様に、本研究においても BMSC は OVX により骨芽細胞分化能と骨石灰化能のいずれも低下したが、FGFR3 シグナルが活性化するとさらに骨芽細胞分化能と骨石灰化能が低下した。

これまでの研究では 4 週齢のマウスにおいては FGFR3 シグナルが亢進すると骨新生は促進することが報告されている。また、若年マウス由来の BMSC において FGFR3 シグナルが亢進すると骨芽細胞の分化は促進することが示されている。本研究では、閉経後骨粗鬆症マウスモデル由来の BMSC において骨芽細胞分化能と骨石灰化能のいずれも低下を認め骨延長部でも骨新生能と骨密度低下し、骨新生能に関しては若年マウスを用いた場合と逆の結果になった。さらに、FGFR3 インヒビターであるメクロジンにより骨石灰化能は改善したことから FGFR3 シグナルは閉経後骨粗鬆症の治療ターゲットとなる可能性がある。

【結論】

FGFR3 シグナルの活性化は、閉経後骨粗鬆症マウスモデルにおける骨新生能および骨石灰化能をさらに抑制する。FGFR3 シグナルは、閉経後骨粗鬆症患者の治療ターゲットとなる可能性がある。