

アミノ酸シグナルによる骨格維持機構

宝田 剛志

Regulatory Mechanisms of Skeletal Tissues by Amino Acid Signaling

Takeshi Takarada

Laboratory of Molecular Pharmacology, Division of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University Graduate School of Natural Science and Technology; Kakuma-machi, Kanazawa 920-1192, Japan.

(Received February 25, 2013)

In this review, we would outline the possible signaling system for three types of amino acids including glutamate (Glu), γ -aminobutyric acid (GABA) and D-serine (D-Ser) to play a role as an extracellular signal mediator in mechanisms underlying maintenance of the cellular homeostasis in skeletal tissues. Although Glu and GABA has been thought to be an excitatory/inhibitory amino acid neurotransmitter in the mammalian central nervous system, our molecular biological analyses give rise to a novel function for Glu and GABA as an autocrine and/or paracrine factor in three types of distinct cell types including osteoblasts, osteoclasts and chondrocytes in bone tissues. Moreover, D-Ser plays a pivotal role in osteoclastogenesis through a mechanism related to the incorporation of serine enantiomers in osteoclasts after the synthesis and subsequent release from adjacent osteoblasts. Accordingly, bone formation and maintenance seems to be under control by amino acid signaling in skeletal tissues as seen with neurotransmission in the brain.

Key words—bone; cartilage; glutamate; γ -aminobutyric acid (GABA); D-serine

1. はじめに

骨格系は、脊椎動物の最も基本的な特徴であり、生体の支持や運動機能の維持に必須の役割を果たすが、同時に生体のカルシウムイオン貯蔵庫としてその血中濃度維持にも不可欠である。骨組織では、破骨細胞、骨芽細胞及び軟骨細胞を中心に様々な細胞が密接して存在するが、このように多様な細胞が集合する組織においては、細胞同士の協調が組織機能の発現と維持に必須なので、細胞間連絡を担う情報伝達物質の役割が非常に重要であると考えられる。よって、これらの細胞に対して特異的に作用する物質を新たに特定することは、各細胞の分化・成熟・機能の制御機構解明に留まらず、それぞれの細胞機能異常に関連する疾患の予防や治療に対し、極めて重要な意義を持つと推察される。現在のところ、骨格組織の機能維持には、各種のホルモンやサイトカインを介する細胞間ネットワーク機構が深く関与す

る事実が解明されている。

一方、アミノ酸はエネルギー産生やタンパク質合成に関与し、生体中ではすべての組織や細胞において、極めて重要かつ基本的な物質であることは周知の事実である。筆者らは、生体内に存在するアミノ酸類の中でも特に3種類のアミノ酸、グルタミン酸、 γ -アミノ酪酸及びD-セリンのような脳内での情報伝達物質が、骨格組織でのシグナル伝達分子として積極的に働くことを発見し、「アミノ酸による骨格維持制御機構」という、骨組織にとって革新的な概念を世界に先駆けて提唱した。その詳細は以下の通りである。

2. グルタミン酸による骨格維持制御機構

グルタミン酸 (L-glutamate; Glu) は中枢神経系において興奮性神経伝達物質として働くアミノ酸であり、細胞膜上の Glu receptor (GluR) を介して細胞内に興奮性の情報を伝達することが知られている。Glu が情報伝達物質として機能するためには、各種 Glu シグナル装置が必要であるが、シグナル入力系としての GluR、シグナル出力系としての vesicular glutamate transporter (VGLUT) 及びシグナル終止系としての glutamate transporter (GluT) で

The author declares no conflict of interest.

金沢大学医薬保健研究域薬学系薬物学研究室 (〒920-1192 金沢市角間町)

e-mail: takarada@p.kanazawa-u.ac.jp

本総説は、平成25年度日本薬学会奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

ある excitatory amino acid transporter (EAAT) が必須であるとされている。また EAAT 以外の GluT として Cystine/Glu antiporter が同定されており、Cystine と Glu の交換輸送を行うことにより、細胞内 glutathione (GSH) 合成に必須の役割を果たすことが知られている。筆者らは、骨芽細胞のモデル細胞として MC3T3-E1 細胞及びマウス頭蓋骨由来初代培養骨芽細胞を使用して、骨芽細胞に発現する Cystine/Glu antiporter に Glu が作用すると、骨芽細胞の増殖性が抑制されること、¹⁾ 閉経後骨粗鬆症モデルマウスの骨組織では、Cystine/Glu antiporter サブユニットの 1 つである xCT が高発現すること、²⁾ 及び骨芽細胞に xCT を強制発現させると骨芽細胞の分化能が顕著に抑制されること³⁾ を見い出した。また、間葉系幹細胞のモデル細胞として C3H10T1/2 細胞及びマウス骨髄由来間葉系幹細胞を使用し解析を行った。その結果、Glu が間葉系幹細胞膜に発現する Cystine/Glu antiporter に作用することにより、細胞内 GSH 濃度変動を介して幹細胞の自己複製能⁴⁾ 及び骨芽細胞への分化能を抑制すること⁵⁾ を見い出した。これらの実験的事実は、Glu シグナルネットワーク形成が骨芽細胞だけではなく、その前駆細胞においても細胞機能制御に重要である可能性を強く示唆する結果である。

3. GABA による骨格維持制御機構

中枢神経における神経情報伝達は、主に興奮性シグナルと抑制性シグナルの相互調節により成り立っている。興奮性アミノ酸伝達物質としては上述の Glu が、及び抑制性アミノ酸伝達物質としては γ -アミノ酪酸 (γ -aminobutyric acid; GABA) がよく知られている。これら神経伝達物質を介する相反性シグナル伝達調節により脳内の機能が制御されることを考えると、末梢組織においても、興奮性の Glu シグナル伝達機構と、抑制性の GABA シグナル伝達機構が随伴して存在する可能性が考えられる。

Glu シグナル研究の場合と同様に、MC3T3-E1 細胞及びマウス初代培養骨芽細胞を利用した解析の結果、骨芽細胞には GABA 受容体サブタイプの 1 つである GABA_B 受容体構成サブユニットとして、GABA_BR1 サブユニットと GABA_BR2 サブユニットの両サブユニットが発現して、GABA_B 受容体として破骨細胞の分化決定因子である RANKL の発現制御を通じて、骨リモデリングを制御する事実を

見い出した。⁶⁾ これに対して、軟骨細胞のモデル細胞として ATDC5 細胞及びマウス肋軟骨由来初代培養軟骨細胞を用いて解析したところ、軟骨細胞では GABA_BR2 サブユニットの発現が求められないにもかかわらず、GABA_BR1 サブユニットは細胞核内において転写制御因子 ATF4 の機能調節を介して、軟骨細胞の分化と成熟を正に制御することを見い出した。⁷⁾ この結果は、GABA_B 受容体構成サブユニットが、単独で遺伝子転写に影響を与える可能性を初めて提唱することとなった。

4. D-セリンによる骨格維持制御機構

D-セリン (D-Serine; D-Ser) は、L-Ser からラセミ化酵素である serine racemase (SR) により合成される D 体アミノ酸である。中枢神経系を構成する細胞群は主に神経細胞とグリア細胞であるが、グリア細胞においては L-Ser は SR により D-Ser へと変換されるが、この D-Ser は神経細胞においては Glu 受容体の一種である NMDA 受容体の Glycine site への結合を介して、NMDA 受容体活性化に必須の内在性アゴニストとして機能することが知られている。

筆者らは、ATDC5 細胞及びマウス肋軟骨由来初代培養軟骨細胞を用いて解析したところ、軟骨細胞には NMDA 受容体が発現し、その活性化は軟骨細胞の成熟化を促進させることを見い出した。⁸⁾ この結果を受けてさらに解析を進めたところ、軟骨細胞には D-Ser 合成酵素である SR が高発現すること、⁹⁾ 軟骨細胞が D-Ser の合成及び放出活性をともに有すること、⁹⁾ 及び軟骨細胞の NMDA 受容体が D-Ser による活性調節を受けることを発見した。¹⁰⁾ さらに、SR は軟骨細胞だけではなく骨芽細胞にも発現して、骨芽細胞由来の D-Ser が破骨細胞に発現するアミノ酸トランスポーターに作用し、L-Ser の細胞内輸送を抑制して破骨細胞による骨吸収を抑制することを見い出した。¹¹⁾ 以上の研究成績は、骨芽細胞、破骨細胞及び軟骨細胞のいずれにおいても、D-Ser が重要な内因性機能制御因子である可能性を世界に先駆けて実証する内容である (Fig. 1)。

5. おわりに

代表的な骨疾患である骨粗鬆症の日本における患者数は、現在 1000 万人を超えると推定されている。また軟骨破壊の起こる二大疾患は関節リウマチと変形性関節症であるが、これら疾患に対する画期

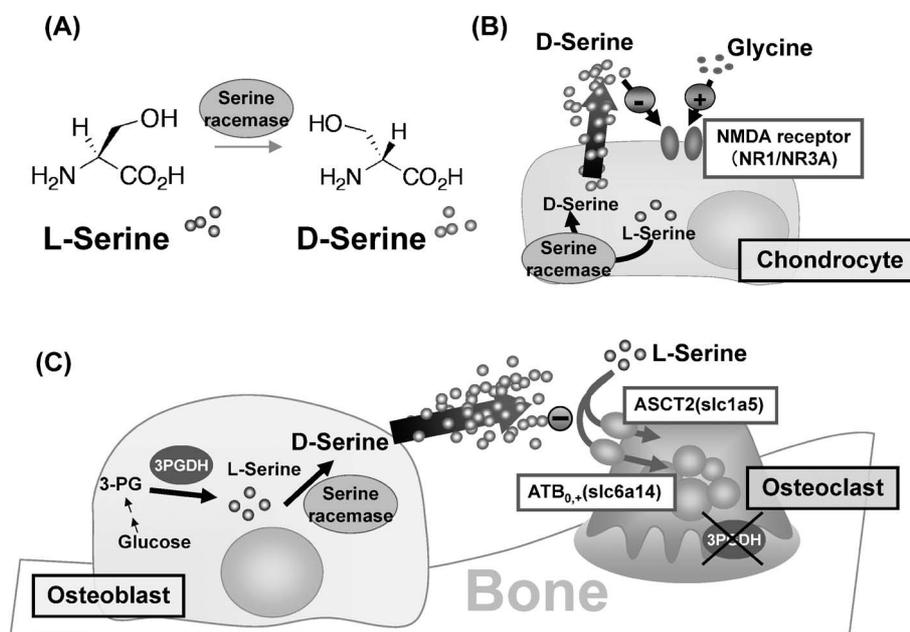


Fig. 1. D-Serine in Skeletal Tissues

(A) Structural diagram of L-serine and D-serine. (B) D-Ser would be synthesized from intracellular L-Ser by the catalytic action of SR expressed by chondrocytes at different developmental stages for subsequent release into extracellular space. Extracellular D-Ser could then inhibit as an antagonist for the Glyc-operated NMDAR composed of NR1 and NR3A subunits expressed by hypertrophic chondrocytes, followed by interference with Runx2 transcriptional activity toward delayed chondrocyte differentiation. (C) D-Ser may play a pivotal role in osteoclastogenesis through a mechanism related to the incorporation mediated by both $ATB_{0,+}$ and ASCT2 of serine enantiomers in osteoclasts after the synthesis and subsequent release from adjacent osteoblasts.

的な治療手段や治療薬は現在のところ皆無の状態である。この現状を勘案すると、両疾患に対する治療戦略の展開は、世界的規模で社会的必要性和緊急性を有する重大課題である。筆者らはアミノ酸による骨格維持制御機構の存在に関する研究を現在も実施中であるが、¹²⁾ 筆者らが解明した新たな分子基盤に基づいて、骨関節系疾患に対する新規治療戦略の展開が可能となると推察される。またわれわれは既にリウマチ性疾患の発症とアミノ酸シグナルとの関連性について、全身性エリテマトーデス発症とNMDA受容体機能異常との関連性を報告済みである。¹³⁾ 今回明らかとした一連の研究成果は、生体内細胞間ネットワーク構築と維持メカニズムに新規概念を導入するだけでなく、薬物療法の実施が極めて困難な骨格系疾患の治療と予防の確立に向けて、新しい観点からの理論構築と実践的対策を可能とするものと考えられる。

謝辞 本研究を遂行する上において終始ご懇切なるご指導とご鞭撻を賜りました、金沢大学医薬保健研究域薬学系・米田幸雄教授に厚く御礼申し上げます。また、本研究の遂行にあたり、ご指導とご鞭

撻を賜りました大阪府立大学大学院環境生命科学研究科・中村洋一教授、立命館大学薬学部・谷浦秀夫教授、京都産業大学総合生命科学研究部生命システム学科・中村暢宏教授、セントルイス大学小児科・戸松俊二博士、金沢大学医薬保健研究域薬学系・檜井栄一准教授並びに金沢大学医薬保健研究域薬学系・中道範隆准教授に厚くお礼申し上げます。さらに、多大なるご協力とご援助を頂きました金沢大学医薬保健研究域薬学系・薬物学研究室の皆様へ深く感謝いたします。最後に、日本薬学会奨励賞選考委員並びに関係者の先生方に深謝いたします。

REFERENCES

- 1) Uno K., Takarada T., Hinoi E., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **213**, 105–114 (2007).
- 2) Uno K., Takarada T., Nakamura Y., Fujita H., Hinoi E., Yoneda Y., *J. Pharmacol. Sci.*, **115**, 309–319 (2011).
- 3) Uno K., Takarada T., Takarada-Iemata M., Nakamura Y., Fujita H., Hinoi E., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **226**, 2953–2964 (2011).
- 4) Iemata M., Takarada T., Hinoi E., Taniura H., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **213**, 721–729

- (2007).
- 5) Takarada-Iemata M., Takarada T., Nakamura Y., Nakatani E., Hori O., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **226**, 652–665 (2011).
 - 6) Takahata Y., Takarada T., Hinoi E., Nakamura Y., Fujita H., Yoneda Y., *J. Biol. Chem.*, **286**, 32906–32917 (2011).
 - 7) Takahata Y., Hinoi E., Takarada T., Nakamura Y., Ogawa S., Yoneda Y., *J. Biol. Chem.*, **287**, 33293–33303 (2012).
 - 8) Takahata Y., Takarada T., Osawa M., Hinoi E., Nakamura Y., Yoneda Y., *Cell Tissue Res.*, **333**, 91–103 (2008).
 - 9) Takarada T., Hinoi E., Takahata Y., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **215**, 320–328 (2008).
 - 10) Takarada T., Takahata Y., Iemata M., Hinoi E., Uno K., Hirai T., Yamamoto T., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **220**, 756–764 (2009).
 - 11) Takarada T., Takarada-Iemata M., Takahata Y., Yamada D., Yamamoto T., Nakamura Y., Hinoi E., Yoneda Y., *J. Cell. Physiol.*, **227**, 3477–3487 (2012).
 - 12) Takarada T., *Yakugaku Zasshi*, **132**, 1145–1149 (2012).
 - 13) Gono T., Takarada T., Fukumori R., Kawaguchi Y., Kaneko H., Hanaoka M., Katsumata Y., Yoneda Y., Yamanaka H., *Arthritis Rheum.*, **63**, 3952–3959 (2011).