

平成21年 4月17日現在

研究種目： 基盤研究 (C)

研究期間： 2007～2008

課題番号： 19592130

研究課題名 (和文) 破骨細胞の分化と骨吸収におけるカベオラ・ラフトの役割とその細胞内動態に関する研究

研究課題名 (英文) Elucidation on roles of caveolae/lipid raft on osteoclast differentiation and bone resorption and on intracellular trafficking of caveolin-1

研究代表者

羽毛田 慈之 (HAKEDA YOSHIYUKI)

明海大学・歯学部・教授

研究者番号： 90164772

研究成果の概要：

Caveolae/lipid rafts は cholesterol と sphingolipids を多く含んだ細胞膜マイクロドメインであり、細胞分化機能を調節するシグナル伝達を調節している。また、この caveolae/lipid rafts の裏打ちタンパク質である caveolin-1 は、破骨細胞形成過程で破骨細胞分化のトリガーとなる分子の RANKL によって大きく発現誘導された。また、破骨細胞形成は細胞外からの cholesterol に強く依存し、caveolae/lipid rafts の破壊および形成不良によって、破骨細胞シグナルの変調をきたし破骨細胞形成が抑制されることが明らかとなった。これらの結果から、破骨細胞分化に caveolae/lipid rafts とその構成タンパク質である caveolin-1 が重要な役割を演じていることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 歯学・形態系基礎歯学

キーワード： 破骨細胞、caveolin-1、lipid/raft、コレステロール、RANKL、NFATc1、FcRγ

1. 研究開始当初の背景

破骨細胞が、硬組織の発生、成長、生理的なリモデリングに対して、また、生体内のミネラル代謝の恒常性を維持するために重要な役割をもつことは言うまでもない。また、歯周病にともなう骨破壊など様々な硬組織疾患に対しても破骨細胞は大きく関与する。さらには、近年注目を浴びている

骨再生治療においても、成熟した骨組織の形成には破骨細胞が不可欠である。

過去10年の間に、破骨細胞の分化と機能の制御機構の研究は大きく進歩し、その分子レベルでの大筋が解明されてきた。破骨細胞の起源が血液系幹細胞であること、破骨細胞の前駆細胞は未分化なモノサイト・マクロファージ lineage に属し、骨組織の

特有な微環境下で骨芽細胞などの間質細胞との細胞間相互作用を介して破骨細胞の形成・分化が進行すること、その細胞間相互作用に多くの接着因子・サイトカインが関与すること、なかでも、macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) 支持のもと receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) が破骨細胞分化のトリガーとなることなどが明らかにされてきた。そして、破骨細胞分化に係る情報伝達機構に関しても、その幹となる [RANKL \rightarrow RANK \rightarrow AP-1、NF- κ B、Ca signaling の活性化 \rightarrow NFATc1 (破骨細胞分化のマスター遺伝子) の活性化] が明らかにされた。しかし、関係分子のキャスティングはほぼ揃ったが、それら分子の細胞内での動的な演出に関してはまだ充分には解明されていない。分化の最終段階である成熟破骨細胞の大きな特徴は多核であるというばかりでなく、骨吸収活性に係る分子群が basolateral 側と apical 側とにすみ分けされ、さらに、apical 側では波状縁とその周囲の封鎖帯とで局在分子が異なっている。それら異なった局在を示す分子が協調して骨吸収を遂行しているということである。しかし、それら骨吸収関連分子の秩序だった trafficking に関してはほとんど解明されていない。

我々は、蛍光ディフュージョン・ディスプレイ (FDD) 法を用いて、RANKL で誘導される破骨細胞分化のマスター遺伝子の探索を試みた。そして、RANKL によって著明に発現誘導され、破骨細胞 lineage に入った細胞に特異的かつ豊富に発現していた遺伝子の 1 つが caveolin-1 (Cav-1) であった。

Cav-1 は Cav-2 とともに cholesterol と sphingolipid-rich な細胞膜のマイクロドメインの裏打ちタンパク質として caveolae/lipid raft を形成する。caveolae/lipid raft には多くの受容体分子やそれら受容体と結合し情報を細胞内に伝達する分子、さらには、それらの情報伝達を正もしくは負に制御する分子が集合し、細胞外からの情報を効率良くあるいは細胞機能に必要な秩序立った情報を伝達する役割を持つ。また、caveolin は Golgi 装置や endosome に局在し、それら細胞内小器官の trafficking に重要な役割を演ずると考えられている。さらに、caveolae/lipid raft は microfilament や microtubule といった細胞骨格とも相互作用を持つ。これらを考え合わせると、破骨細胞の形態と機能とに caveolae/lipid raft が密接に係っていることが推測される。すなわち、破骨細胞は basolateral 側と apical 側とが形態学的にも分子的にも異なった高度に極性化した細胞であること、actin ring のように細胞骨

格が発達していること、波状縁から cathepsin K が exocytosis によって放出され骨吸収窩で骨有機基質の分解が行われること、さらに波状縁から endocytosis によって骨基質分解物を細胞内に取り込むこと、そして、Cav-1 の発現が破骨細胞分化のトリガー分子である RANKL に依存していることなどといった破骨細胞の特性は、caveolae/lipid raft と破骨細胞の密接な関連を十分に示唆している。しかし、この関連を示す研究はまだ手付かずの状態にある。

2. 研究の目的

本研究は、RANKL で誘導される破骨細胞分化関連遺伝子探索のプロジェクトから同定された Cav-1 が破骨細胞の分化に、また、破骨細胞の骨吸収機能にどのように係っているかを解明し、caveolae/lipid raft の破骨細胞生物学における役割を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) *In vitro* における破骨細胞形成系

4~8 週齢のオスの ICR マウスの大腿骨および脛骨を無菌的に取り出し、 α -minimum essential medium (α -MEM) 中で骨に付着している軟組織を除去した後、骨端部を切除し、骨髓細胞を 21G 注射針を付けたシリンジを用いてフラッシュアウトした。骨髓細胞を単一細胞に懸濁した後、1 匹からの骨髓細胞当たり 10 ml の Leukoprol (M-CSF の代替品) を含む α -MEM/10% FBS で骨髓細胞をペトリディッシュに播種し、37°C、5%CO₂ 存在下で 3 日間培養した。培養後、非付着細胞を PBS で充分に洗浄除去し、ペトリディッシュに付着した細胞を 0.25% trypsin/0.05% EDTA/PBS で回収した。本研究ではこれら M-CSF 依存性モノサイト・マクロファージを破骨細胞の前駆細胞とし、以下の実験に供した。

回収した破骨細胞前駆細胞を培養ディッシュおよびマイクロプレートに播種し、M-CSF、soluble RANKL を含む α -MEM/10% FBS 培地で 37°C、5%CO₂ 存在下で培養した。培養終了後に、細胞を 10%ホルマリンで固定し、破骨細胞のマーカー酵素である TRAP 活性を染色した。3 核以上の TRAP 陽性の多核細胞を破骨細胞と見なし、その数を顕微鏡下で測定し、各種因子の破骨細胞形成に対する効果を検討した。

(2) Fluorescent differential display (FDD) 法

M-CSF 依存性の破骨細胞前駆細胞に sRANKL を添加し、12、24 および 48 時間培養した。各々の培養時間終了後、total RNA を定法に従い回収した。First-strand DNA を Texas Red でラベ

ルされた3種類のoligo(dT)primer (5'-TexasRed-GT₁₅N-3', N = G, C, or A)と Superscript II preamplification systemを用いてtotal RNAから合成した。つぎに、3種類のTexas Redでラベルされたoligo(dT)primersと240種類の10-merからなる任意のprimers (kit B, D, F, and X, Operon Technologies)を用いて反応液 [0.2 mM dNTP, 1U Taq DNA polymerase] 中で増幅した。増幅産物を電気泳動し、塩基配列を解読した。

(3) Semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)法

FDD法と同様に、各種条件下で破骨細胞前駆細胞を培養した後、total RNAを調製しcDNAを合成した。用いたprimerの塩基配列はマウスCav-1, Cav-2, Flot-1, c-fos, NFAT-c1およびB-actinの塩基配列を基にして合成した。増幅後、PCR産物を電気泳動し、増幅産物をethidium bromide染色で可視化した。

(4) Western blotting分析

破骨細胞系の細胞に様々な処理を施した後、細胞抽出用bufferで剥離回収した。等量のタンパク質を含む細胞抽出液を12% SDS-PAGEで展開し、次にゲル中で分離したタンパク質をPVDF膜上に転写した。そして、破骨細胞シグナルに関連した分子の抗体を用いて、Western blotting分析をおこなった。

(5) 細胞膜のcaveolae/lipid rafts分画の調製

各種条件下で培養した破骨細胞系の細胞を冷PBSで洗浄した後、0.5% Brij 58を含む2 mlの冷TNE [50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM p-ABSF, 2 µg/ml aprotinin, 2 µg/ml pepstatinおよび2 µg/ml leupeptin]を加え、30分間氷上で静置した。細胞を剥離し回収した後、その細胞溶解液に2 mlの80% sucrose/TNEを加え、十分に攪拌した。超遠心チューブに加えた。そこで、その上層に4 mlの35% sucrose/TNE、さらにその上層に2 mlの5% sucrose/TNEを各層が混ざらないように静かに重層し、4°C 78,500 x gで16時間の超遠心分離を行った。遠心分離後、遠心チューブの底に注射針を刺し、分画溶液を1 mlずつ回収した。

(6) 核タンパク質の調整および electrophoretic mobility shift assay (EMSA)

破骨細胞前駆細胞を各種条件下で培養した後、核タンパク質を抽出し、NFATc1の³²PiでラベルされたDNA結合部位

(5'-GGAACATGACAGCTCATTTCATGTTCCCT-3')で30分室温にて反応させた。核タンパク質-oligonucleotideの複合体をPAGEで分離し、オートラジオグラフィーによって可視化した。

(7) 共焦点レーザー顕微鏡観察

M-CSFおよびM-CSF+sRANKL存在下で破骨細胞前駆細胞を象牙片上で任意日数培養した後、Alexa Fluor 555標識 cholera toxin subunit B (1µg/ml)を含んだ冷α-MEM/10% FBSでインキュベーションした後、paraformaldehyde/PBSで固定した。さらに0.1% saponin/PBSで細胞膜の透過性を持たせた。次に、anti-Cav-1抗体を含む5% BSA/PBSで免疫反応を1時間室温で行い、洗浄後、引き続きAlexa Fluor 488-標識 chicken anti-rabbit IgG抗体で1時間室温にてインキュベーションした。その後、核染色をした。共焦点レーザー顕微鏡観察は488 nmと555 nmの励起光のmulti-trackで観察した。

4. 研究成果

(1) 成果

本研究は、破骨細胞形成に関する未知な分子を探索するため fluorescent differential display法を用いて、RANKLによってその遺伝子発現が誘導される分子としてCav-1を同定した。Cav-1はcholesterolと sphingolipidsの豊富な細胞膜マイクロドメインであるcaveolae/lipid raftsの主な構成タンパク質である。マウス骨髄細胞をM-CSF存在下で培養し形成された破骨細胞前駆細胞にRANKLを添加すると、添加6時間で既にCav-1遺伝子の発現が誘導され、その発現量の増加は多核の破骨細胞が形成されるまで持続した。このCav-1遺伝子の誘導と一致して、Cav-1タンパク質もRANKLによって大きく発現誘導された。一方、平面lipid raftsの主な構成タンパク質であるflotillin-1の発現はRANKL処理によって逆に減少した。この破骨細胞前駆細胞におけるRANKLに依存したCav-1発現は、破骨細胞形成をRANKLとともに相乗的に促進するtransforming growth factor-βによってより大きく増加した(図1)。

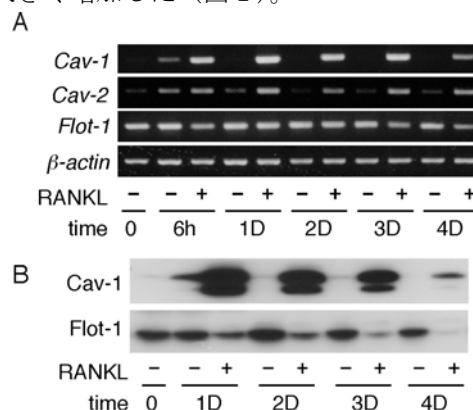


図1 破骨細胞前駆細胞におけるRANKLに依存したCav-1の発現 A, semi-quantitative RT-PCR; B, Western blotting analysis.

発現誘導されたCav-1はすみやかに細胞膜

lipid raftsへ移動した。また、細胞を methyl- β -cyclodextrin (MCD) で処理し、細胞膜から cholesterol を除去することによって lipid rafts を破壊すると、lipid rafts 中の Cav-1 は消失した。そして、この MCD による lipid rafts の破壊は破骨細胞形成に必要な情報伝達系の変調をもたらした。すなわち、RANKL 刺激のない状態でも、extracellular signal-regulated kinase (Erk)、c-Jun N-terminal kinase (JNK) そして NF- κ B は恒常的に活性化し、RANKL の刺激を受けてもさらなる活性化はみられなかった。逆に、リン酸化 Akt の基礎レベルは MCD によって減少し、さらに RANKL 刺激によっても活性化が認められなかった。このような破骨細胞形成シグナルの異常は、破骨細胞前駆細胞を lipoprotein 除去した血清 (LPDS) 存在下で培養したときにもみられ、恒常的な Erk の活性化と Akt の不活性化が認められた (図 2)。

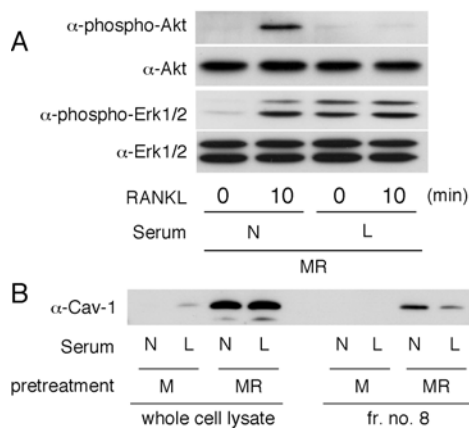


図 2 Lipoprotein 除去血清下での破骨細胞形成シグナルの変調 A, 正常血清 (N) および lipoprotein 除去血清 (L) 下で 2 日間 M-CSF 存在下で前培養し、3 時間血清を除去した後、RANKL で刺激した。B, whole cell lysate と caveolae/lipid raft (Fr. 8) 中の Cav-1 量。

さらに、破骨細胞前駆細胞を LPDS 存在下で培養すると、RANKL が存在していても破骨細胞形成が大きく抑制され、外因的に cholesterol を添加することによって、その抑制が解除された。その時の lipid rafts 中の Cav-1 含有量は有意に減少した。次に、破骨細胞形成に必要な転写因子である c-fos と nuclear factor of activated T cells c1 (NFATc1) の発現に対する LPDS の影響を調べた。これらの発現は Erk、JNK、NF- κ B のといった初期シグナルの活性化に依存している。破骨細胞前駆細胞を LPDS で培養すると、RANKL がなくても、c-fos mRNA が恒常的に発現し、しかも RANKL 非反応的であった。しかし、RANKL 刺激で促進される NFATc1 の発現は、正常血清下での発現に比較して大幅に

遅延した。この c-fos の恒常的な発現と NFATc1 発現の遅延との間には矛盾が生じる。なぜなら、NFATc1 の初期発現は c-fos に依存する。しかし、NFATc1 の最初の発現が惹起された後の NFATc1 の発現は、細胞内のカルシウムシグナルの活性化に連動して NFATc1 が活性化し、その活性化 NFATc1 自身によって増幅される。この破骨細胞内でのカルシウムシグナルの活性化に Fc receptor γ (FcR γ) と DAP12 が関与する。そこで最後に、caveolae/lipid rafts 中の FcR γ 量に対する LPDS の影響を調べた。その結果、破骨細胞前駆細胞を LPDS 下で培養することによって、caveolae/lipid rafts 中の FcR γ 量が、有意に減少した。この caveolae/lipid rafts 中の FcR γ 量の減少と一致して、核への NFATc1 の移行量が大きく減少し、多くの NFATc1 が細胞質中に留まったままであった (図 3)。

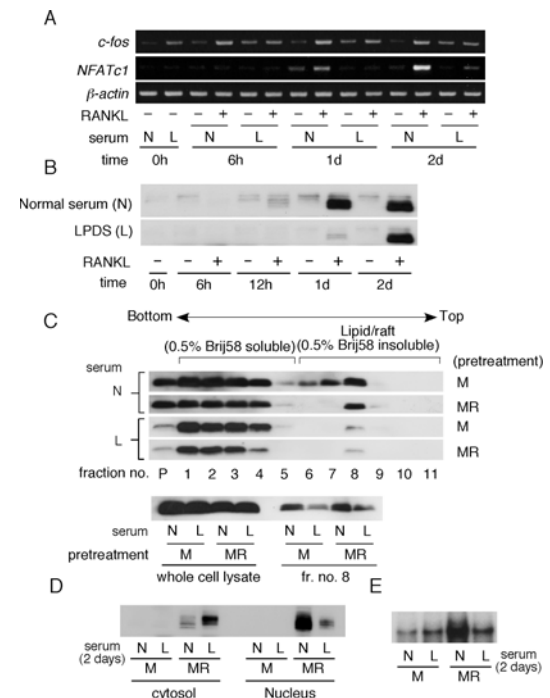


図 3 破骨細胞前駆細胞における lipoprotein 除去血清下での NFATc1 の不活性化 N, 正常血清; L, lipoprotein 除去血清。M, M-CSF; MR, M-CSF+RANKL では破骨細胞前駆細胞を 2 日間前培養した。A, semi-quantitative RT-PCR; B, NFATc1 タンパク発現量に対する Western blotting analysis。C, whole cell lysate 中および caveolae/lipid raft 画分中での FcR γ 量。D, whole cell lysate および核分画での NFATc1 量。E, NFATc1 の EMSA。

この結果は、NFATc1 が発現しても、その大部分がカルシウムシグナルの活性化に連動した NFATc1 の活性化を受けておらず、不活型のまま細胞内に蓄積していることを示しており、結果として、NFATc1 自身による増幅

がうまく作動しなくなっていると考えられた。

総括して、本研究は破骨細胞形成が外からの cholesterol に大きく依存することを示すと同時に、RANKL に依存して発現される Cav-1 と caveolae/lipid rafts の破骨細胞分化過程における重要な役割を示唆している。

(2) 考察

本研究は、破骨細胞分化過程で破骨細胞前駆細胞が RANKL に依存して caveolae/lipid rafts の構成タンパク質である Cav-1 を大きく発現することを示した。また、その Cav-1 発現は破骨細胞形成の速度に比例していた。さらに、細胞膜から cholesterol を除去することによって caveolae/lipid rafts を破壊すると、もしくは培養液から cholesterol を取り除くことによって caveolae/lipid rafts の形成を抑制すると RANKL/RANK からの Erk、JNK、NF- κ B および Akt といった破骨細胞形成シグナルが変調することが明らかとなった。さらに、その変調にもなって、c-fos の恒常的な発現がみとめられた。しかし、c-fos が恒常的に発現しているにもかかわらず、c-fos 発現の下流にあり破骨細胞分化のマスター遺伝子である NFATc1 の発現は大きく遅延した。この遅延は、caveolae/lipid rafts 中の FcR γ の減少とそれにもなったカルシウムシグナルの減少と関連することが考えられた。このように本研究において、破骨細胞形成が強い cholesterol 要求性を示すとともに、その要求性に対して RANKL 依存的な Cav-1 の発現が重要な役割を演じていることが示唆された。

Cav-1 は、最初に Rous sarcoma virus によって形質転換したニワトリ線維芽細胞において、v-src kinase の基質タンパク質として発見され、その後、caveolae/lipid rafts の主な構成タンパク質であることが明らかとなった。Cav は肺上皮細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞、脂肪細胞や筋細胞といった生体内の最終分化を遂げた細胞に特に多く発現している。このように Cav-1 の発現は生体内の多くの細胞で発現していることが確認されているが、血液系の細胞での Cav-1 の発現は、泡沫細胞形成に関連したマクロファージで報告されている他はほとんど研究されていない。破骨細胞はマクロファージと同じ未分化モノサイトに由来することが多くの研究から実証されている。したがって、破骨細胞が Cav-1 を発現することは驚くにはあたらない。しかし、破骨細胞での Cav-1 の発現を示した研究は、本研究も含めて 3 報告しかなく、また、Cav-1 の破骨細胞への役割に関しては皆無である。本研究は、M-CSF 依存性のモノサイト・マクロファージである破骨細胞前駆細胞に RANKL の刺激を与えることによっ

て遺伝子レベルでもタンパク質レベルでも Cav-1 が大きく発現誘導されることを示した。

本研究において、破骨細胞前駆細胞、および、まだ完全には分化していない前破骨細胞の細胞膜から cholesterol 除去し、caveolae/lipid rafts を破壊すると Erk、JNK、NF- κ B といった破骨細胞分化の初期シグナルの恒常的な過剰な活性化を引き起こすことが示された。この過剰な活性化は、破骨細胞前駆細胞を cholesterol-free の培養液で培養したときにも観察された。それらの初期シグナルは本来、RANK と RANKL が結合した後、そのシグナルが TNF receptor-associated factor (TRAF) 6 もしくは TRAF2、さらには transforming growth factor- β activating kinase1 経路で活性化される。現在のところ、caveolae/lipid rafts 破壊にともなう破骨細胞シグナルの変調が何によってもたらされるかについての機構は明らかにされていないが、細胞膜に存在する RANKL/RANK およびその周辺分子である TRAFs あるいは他の adaptor 分子が密接な分子局在を保つため caveolae/lipid rafts に存在し、その局在様式が破骨細胞シグナルの秩序だった伝達に必要であるとするならば、caveolae/lipid rafts 破壊によってその正常なシグナル伝達機構が乱されたことが考えられる。ではなぜ、caveolae/lipid rafts 破壊によって、Erk、JNK、NF- κ B の過剰な活性化が引き起こされるかに関しては、現在のところ明らかではないが、通常、RANK からのシグナルが作動しないよう RANK と TRAFs の間に suppressor が存在していると考え、caveolae/lipid rafts 破壊によって、RANK-suppressor-TRAFs の関係が壊され、RANKL と RANK が結合しなくても破骨細胞シグナルが作動してしまうという可能性がある。この可能性に関しては今後の研究に期待したい。

一方、lipid rafts 破壊にもなって、破骨細胞前駆細胞および前破骨細胞の Akt は RANKL 刺激によって活性化することが失われた。破骨細胞形成に対する Akt の役割は、分化の促進とアポトーシスの抑制が報告されている。その作用機構として、RANKL \rightarrow c-src \rightarrow phosphatidylinositol 3'-kinase (PI3K) or phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) の活性化にもなって、Akt/protein kinase B のリン酸化が促進され Akt が活性化する。すなわち、本研究で示した lipid rafts 破壊にともなう Akt の不活化と RANKL 非感受性は caveolae/lipid rafts 中の RANKL \rightarrow c-src \rightarrow PI3K or PDK1 \rightarrow Akt のカスケードが壊されることによってもたらされると考えられる。

Caveolae/lipid rafts 破壊でもたらされる恒常的な Erk、JNK、NF- κ B の活性化と Akt

の不活化によって、破骨細胞前駆細胞内でのような変化が生じるかという問題に対して、本研究では、恒常的な c-fos の発現と NFATc1 発現の遅延を見いだした。破骨細胞前駆細胞における c-fos の発現は、RANKL/RANK からの Erk、JNK、NF- κ B の活性化という初期シグナルに依存している。したがって、caveolae/lipid rafts 破壊にともなう恒常的な Erk、JNK、NF- κ B の活性化と恒常的な c-fos の発現とは矛盾なく説明することができる。しかし、NFATc1 発現は AP-1、NF- κ B および破骨細胞前駆細胞で既に発現している NFATc2 に依存して初期の発現誘導がおこる。したがって、恒常的な c-fos の発現から NFATc1 発現の遅延を説明することはできない。前述の、AP-1、NF- κ B および NFATc2 に依存した NFATc1 の初期発現は、それら転写因子が NFATc1 遺伝子プロモーター部位に結合し、NFATc1 の発現誘導がおこる。しかし、その後の NFATc1 発現は AP-1、NF- κ B および NFATc2 依存的というよりも、いったん発現した NFATc1 がカルシウムシグナル経路から活性化され、活性型 NFATc1 が核に移行し、AP-1 および cAMP response element binding protein (CREB) binding protein と NFATc1 プロモーターに協調的に結合して、NFATc1 自身の増幅がおこる。したがって、破骨細胞分化に必要な NFATc1 量は十分な AP-1 だけでは足りず、十分な活性型 NFATc1 自身が必要となる。本研究で示した cholesterol-free 状態で培養して破骨細胞前駆細胞の NFATc1 発現の遅延は、この NFATc1 自身の増幅が十分に作動しなかった結果生じることが考えられた。そして、本研究は自己増幅に必要なカルシウムシグナルのトリガーとなる分子である FcR γ の caveolae/lipid rafts 分画での減少を見いだした。その FcR γ 減少と一致して、細胞質内での NFATc1 の蓄積と核移行の減少をあわせて観察した。今後、FcR γ とともにカルシウムシグナルのトリガーとなる分子である DAP12 の caveolae/lipid rafts での挙動と、NFATc1 を直接活性化する calcineurin も解析しなければならない。

本研究は、破骨細胞形成が強い cholesterol 要求性を示すことを明らかにした。現在まで脂質代謝と骨代謝の関連を示す詳細な研究は多くはなされていない。しかし最近、骨粗鬆症と動脈硬化および心臓血管の疾患との関連を示す疫学的研究がなされている。閉経後の女性を対象に血中 LDL および HDL の値と骨密度との相関を調べた結果、血中 LDL 値が高いほど骨密度は低下し、逆に血中 HDL が高いと骨密度の高いという結果が得られた。この疫学調査は骨代謝と脂質代謝の関連を端的に示している。LDL 高値群での骨密度の低下は、骨芽細胞による骨形成の低下と破骨細胞による骨吸収の増加のいずれか、

もしくは、両方からもたらされていることが考えられる。事実、*in vivo* および *in vitro* の実験から、酸化 LDL は大きく骨芽細胞の分化を抑制する。さらに、本研究の結果も含めて、細胞外からの cholesterol の供給が破骨細胞形成および機能に必要であることが最近示された。この cholesterol の骨芽細胞と破骨細胞への作用が LDL 高値群でみられる骨密度の低下をまねいていると考えられる。しかしその詳細は LDL receptor 欠損マウスや ApoE 欠損マウスなどの疾患モデルマウスを用いた解析から明らかにされると思われる。

また、今回十分な解析ができなかった破骨細胞の骨吸収活性への Cav-1 の役割も解析しなければならない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Masuhara, M., Sato, T., Hada, N. and Hakeda, Y. : Protective protein/cathepsin A down-regulates osteoclastogenesis by associating with and degrading NF- κ B p50/p65. J. Bone Miner. Metab., (査読有り) **27**:46-56, 2009.
- ② Sato, T., Masuhara, M., Hada, N., Okayasu, M. and Hakeda, Y. : IFN- ζ /limitin inhibits generation of osteoclast precursors. J. Meikai Dent. Med., (査読有り) **38**:1-8, 2009.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 羽毛田慈之 他 3 名、破骨細胞分化に対する Lipid/raft の役割、第 49 回歯科基礎医学会学術大会、2007 年 8 月 30 日、札幌
- ② 羽毛田慈之 他 7 名、破骨細胞分化における RANKL に依存して発現する caveolin-1 と lipid/raft の役割、第 26 回日本骨代謝学会、2008 年 10 月 29 日、大阪

6. 研究組織

(1) 研究代表者

羽毛田 慈之 (HAKEDA YOSHIYUKI)
明海大学・歯学部・教授
研究者番号：90164772

(2) 研究分担者

佐藤 卓也 (SATO TAKUYA)
明海大学・歯学部・講師
研究者番号：00316689
増原 正明 (MASUHARA MASA AKI)
明海大学・歯学部・助教
研究者番号：70372901

(3) 連携研究者

なし