

# 「急速破壊型変形性股関節症における骨吸収のメカニズム — 細胞内蛋白分解系における c-Cbl による Src の 調節メカニズム —」

鹿児島大学医学部整形外科  
横内 雅博

急速破壊型変形性股関節症（以下RDC）は短期間に急激な関節の破壊をきたすため、その原因究明、及びその骨吸収のメカニズムを明らかにすることが有効な治療法の確立において重要であると考えられます。

我々は現在までの研究でRDCの関節液中で様々なサイトカイン、増殖因子が異常高値を示していることを明らかにしてきましたが、しかしこれらの因子が受容体を介しどのようにして骨吸収系の細胞を活性化するのは未だ不明な点が多いのが現状です。

そこで本研究では破骨細胞の機能発現に重要な因子である非受容体型チロシンキナーゼ、Srcを中心にその細胞内情報伝達系の解析を行いました。癌原遺伝子であるc-Srcのノックアウトマウスは破骨細胞の機能不全による大理石病を呈し、最終分化の段階で破骨細胞の成熟化に必要とされている分子です。

また、Srcと同じく癌原遺伝子であるc-CblはSrcの下流に位置しそのシグナル伝達に重要であることが報告されております。我々は最近の研究でc-Cblがユビキチンリガーゼであることを見い出しており、今回の研究においてc-Cblが活性型Srcの選択的ユビキチン化に関与する可能性もあると考えて解析を行いました。

我々は最近の研究でc-Cblがユビキチンという蛋白質を分解するための指標となる分子を、活性化された受容体に特異的に結合させ

ることにより分解に導き、そして分解することによって活性化された受容体のチロシンキナーゼ活性をoffにするという報告を行ってきました。

しかしc-Cblが実際に非受容体型チロシンキナーゼであるSrcに対しても受容体型チロシンキナーゼと同様にその働きを持っているのか、つまり破骨細胞の機能をユビキチンシステムを介して制御しているのか、その詳細はわかっておりませんでした。

c-Srcという分子は、ご存じの方も多いと思いますがこれをノックアウトすると大理石病を呈しますが他の組織には表現型が認められないことから、c-Srcを分子標的とした破骨細胞の機能制御への可能性、ひいては骨粗鬆症などの骨代謝疾患への治療に対するターゲットとしての有効性を期待されている分子であります。この分子は通常分子内結合により不活性型となっていますが、それが527番目のチロシンがリン酸化されることによりオープン状態になり、活性化されることが分かっています。

それで、この活性化された状態にc-Cblが働くか否かをin vitroのユビキチネーションの実験を用いて調べてみました。その結果組み換え体c-Cbl及びSrcを用いてin vitroでSrcのユビキチン化を示すことに成功し、更にc-Cblは活性型のSrcのみのユビキチン化を促進し、キナーゼ活性がないSrcをユビキ

チン化しないことが明らかとなりました。

つまりこれは活性型 Src に対する c-Cbl を介した蛋白質分解系による新しい調節機構であると考えられます。

今度はそれをもう少し詳しく調べるために c-Cbl 自身のユビキチン化を見てみますと、活性型の Src の存在下において c-Cbl が非常によくユビキチン化されることがわかりました。つまり、Src が活性化されて c-Cbl をリン酸化することによって、c-Cbl がユビキチンの結合能を獲得して Src をユビキチン化するのではないかということがわかりました。

更に in vitro の実験系を使って同様の実験を行いますと E1、E2 及び Src と c-Cbl のみで Src のユビキチン化がおこると思われました。

これらのデータから c-Cbl は活性化型の Src によってリン酸化されることがその機能に重要であり、リン酸化されて初めて c-Cbl は Src にユビキチンを付加できるのではないか、また同時に自分自身にもユビキチンを付加し、最終的にプロテアゾームで全体として分解されるのではないかと考えられました。c-Cbl はこの機序をもって Src のキナーゼ活性を抑制しているのではないかと考えられます。(図1)

ユビキチンシステムは近年、神経疾患、癌疾患を含むさまざまな分野でその重要性が明らかになってきておりますが、本研究から破骨細胞においてもユビキチンシステムが重要な役割を果たしていると考えられました。今後、ユビキチンシステムをキープポイントとした破骨細胞の制御なども RDC を含む運動器疾患の治療に対する研究の一つの方向性として考えていって良いのではないかと思います。

以上の報告は、H13年のJ.B.Cに報告させていただきました。また、第2回の運動器科学研究会においても報告させていただきました。すべての研究はエール大学のバロン先生と鹿児島大学整形外科教授の小宮先生の指導のもとで行われました。

最後になりましたが、股関節研究振興財団の助成金に感謝の言葉を述べさせていただきますと思います。ありがとうございました。

伊丹 どうもありがとうございました。ご質問はございますか。ないようでございますので、どうもありがとうございました。

これで研究助成金による研究成果報告を終わらせていただきます。

### RDCの関節液

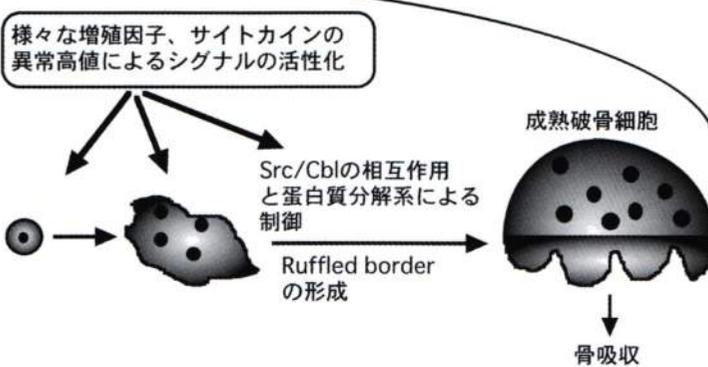


図1