

## 骨芽細胞の基質小胞による初期石灰化

片山 映<sup>1</sup> 栗原佐知子<sup>1,2</sup> 鈴木 英紀<sup>3</sup> 小黑 辰夫<sup>3</sup> 折茂 英生<sup>1</sup><sup>1</sup>日本医科大学生化学・分子生物学（代謝・栄養学）<sup>2</sup>日本医科大学産婦人科学<sup>3</sup>日本医科大学共同研究施設形態解析研究室

## Osteoblasts Secrete Matrix Vesicles and Initiate Primary Mineralization

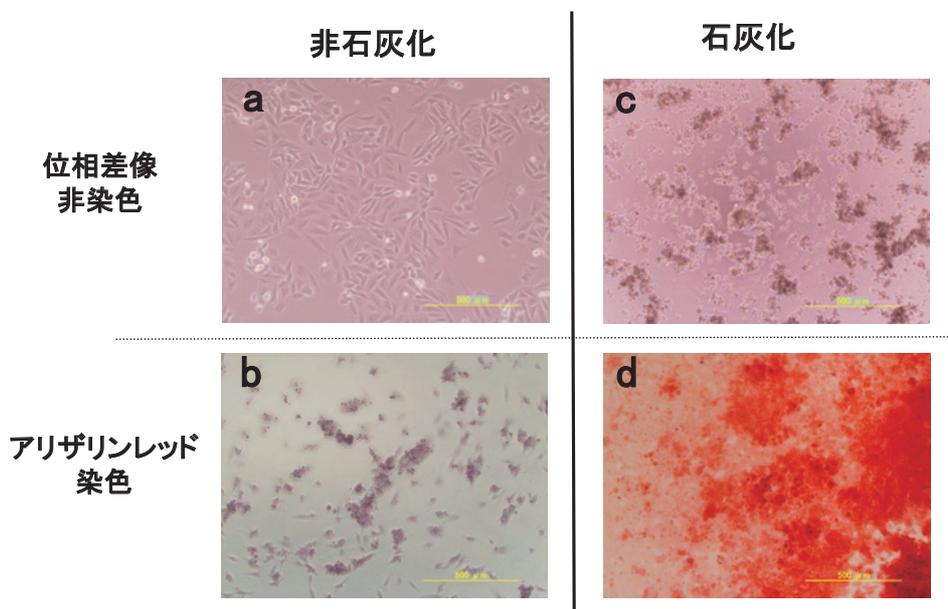
Akira Katayama<sup>1</sup>, Sachiko Kurihara<sup>1,2</sup>, Hidenori Suzuki<sup>3</sup>,  
Tatsuo Oguro<sup>3</sup> and Hideo Orimo<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nippon Medical School<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Nippon Medical School<sup>3</sup>Department of Morphological and Biomolecular Research, Nippon Medical School

図 1

骨形成時の石灰化反応は、骨芽細胞から分泌される骨基質タンパク質と基質小胞により誘導が開始される。石灰化の初期段階は、基質小胞性石灰化と、その後の拡大期のコラーゲン性石灰化に分けられる。基質小胞性石灰化では、基質小胞内でリン酸カルシウムの沈着の後ハイドロキシアパタイト結晶が形成され、さらに小胞外へ析出して石灰化球となる。その後、骨基質のコラーゲン線維に沿ってハイドロキシアパタイト結晶が成長・拡大してコラーゲン性石灰化に移行する。基質小胞には、リン酸カルシウム結晶の形成に関わるタンパク質群を含み、これらが分子の輸送、結晶生成、石灰化球へ成長を誘導しているとされる<sup>1</sup>。これまで、リン酸イオンを産生する組織非特異型アルカリホスファターゼや基質小胞内へのカルシウムイオンの輸送に

関わるアネキシンファミリー等が基質小胞性石灰化に関わるタンパク質群とされ解析が進められているが、リン酸カルシウム沈着からハイドロキシアパタイト結晶へ晶系の移行や、基質小胞から析出後の石灰化反応の調節などの詳細な分子機構は不明である<sup>2,3</sup>。ヒト骨芽細胞様細胞株 SaOS-2 はリン酸源の添加で基質小胞性石灰化が誘導され、リン酸カルシウムの沈着を起こすことが知られている（図 1）。この際分泌される基質小胞は直径 40~300 nm ほど（図 2b）で、組織非特異型アルカリホスファターゼやアネキシンファミリー等に加え 200 以上の構成タンパク質が二次電気泳動による分離で確認された（図 3）。さらに石灰化の非誘導下で培養した細胞から同様の抽出条件によって、基質小胞と構成タンパク質が類似した小胞の分泌が確認された

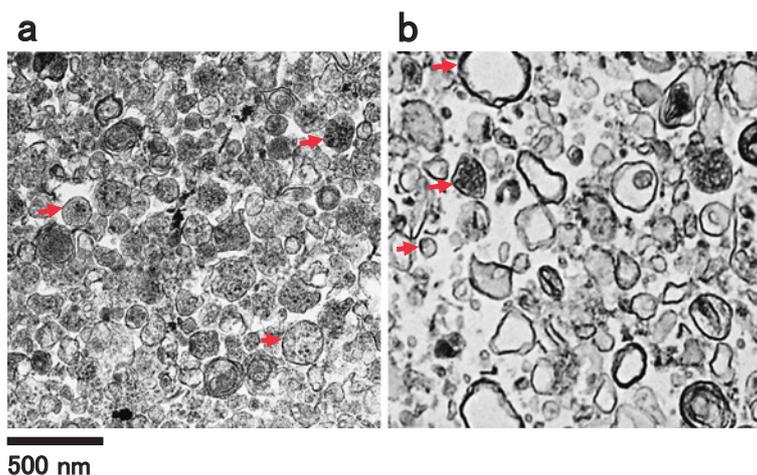


図 2

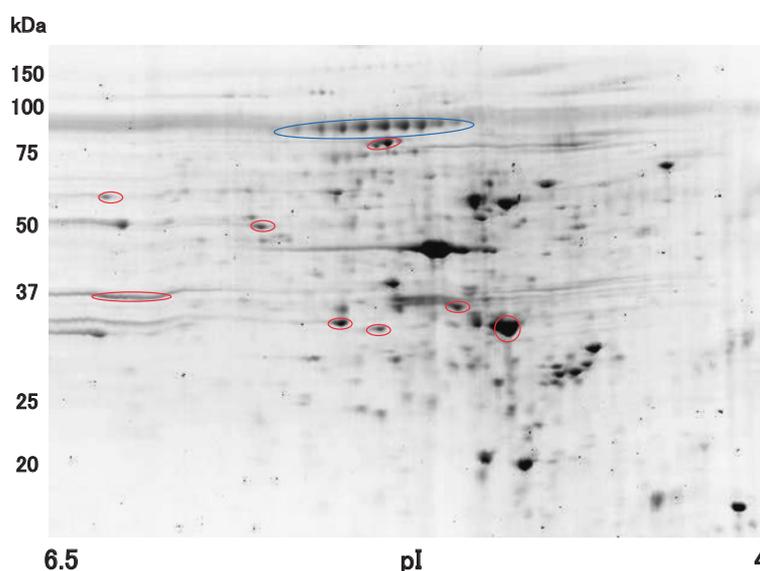


図 3

(図 2a). 非誘導下の培養より抽出・精製した小胞において、リン酸源の添加による石灰化反応が確認され、これを

図1 a. 非石灰化, c. 石灰化培養の SaOS-2  
b. 非石灰化, d. 石灰化培養の SaOS-2 アリザリンレッド染色像  
d は石灰化で沈着したカルシウムに色素が結合し赤色に発色

図2 基質小胞の透過型電子顕微鏡像

用いた基質小胞性石灰化の詳細な反応機構の解析を進めている。

a. 非石灰化培養由来, b. 石灰化培養由来  
矢印は典型的な小胞を示す

図3 石灰化培養由来基質小胞の構成タンパク質の二次元電気泳動像  
青：組織非特異型アルカリホスファターゼ 赤：アネキシンファミリー

### 文 献

- Anderson H, Clarke MD: Molecular Biology of Matrix Vesicles. Clin Orthop Relat Res 1995; 314: 266-280.
- Orimo H, Shimada T: The role of tissue-nonspecific alkaline phosphatase in the phosphate-induced activation of alkaline phosphatase and mineralization

in SaOS-2 human osteoblast-like cells. Mol Cell Biochem 2008; 315: 51-60.

- Thouverey C, Malinowska A, Balcerzak M, et al: Proteomic characterization of biogenesis and functions of matrix vesicles released from mineralizing human osteoblast-like cells. J Proteomics 2011; 74: 1123-1134.