

【目的】 骨粗鬆症は、高齢化に伴って罹患者が 1,000 万人に増加しており、骨脆弱性を基盤とした骨折が多発している。骨粗鬆症の発症には遺伝的素因があり、骨粗鬆症に関連した多数の SNPs（一塩基多型）が GWAS で見出されている。しかし、これらの SNPs がどのようなメカニズムで骨粗鬆症の病態発現に関与するのかについてはほとんど明らかになっていない。このようなメカニズムを解明するためには、対象とする SNP のアロタイプのみが異なり他のゲノム配列は同一である細胞のペアを準備し、それらの機能を比較する必要があるが、従来ヒトの細胞ではこのような実験は容易ではなかった。ゲノム改変技術の進歩は、このような細胞のペアをヒトの体細胞でも供給することを可能とした。本研究では、骨密度と強い相関を示す Wls 遺伝子領域の 2 か所の SNPs に着目した。これらの SNPs は、骨芽細胞における Wnt の産生に関与する可能性が考えられるが、Wls SNP と Wnt の制御を結びつける分子機構は不明である。マウスではこの SNP 近傍配列はヒトとは異なるので、ヒト骨芽細胞でなければ解析できない。

そこで Wls 遺伝子領域の 2 か所の SNPs のアロタイプを特異的に改変した骨芽細胞を作出し、上記の分子機構の解明につなげることを目的とした。本研究の成果は、低骨密度型アロタイプを有する骨粗鬆症患者の病態を理解し新しい治療法の創出に繋がるものと期待できる。さらには、患者由来の骨芽細胞にゲノム矯正を施し、骨形成能を増強してから自家移植するという、骨粗鬆症に対する新しい「遺伝子矯正再生治療」につながるも期待される。

【方法】 ヒト iPS 細胞の Wls 遺伝子座のゲノム配列をシーケンシングし、Wls 遺伝子領域の 2 か所の SNPs がヘテロタイプである 1 株を選んだ。この細胞のゲノムを改変し、上記 SNPs が低骨密度型のホモタイプである 2 クロンを樹立した。Wnt 遺伝子、βカテニン遺伝子、および骨芽細胞特異的遺伝子群の mRNA 発現を、real time RT-PCR にて定量解析した。

【結果】 WT、Clone #2、および Clone #12 の 3 種の細胞株それぞれについて、分化誘導前後の Wnt 遺伝子と βカテニン遺伝子の発現を解析したところ、WT に比して Clone #2 では Wnt2 の発現が上昇し Clone #12 では Wnt1 の発現が上昇していた。βカテニン遺伝子の mRNA 発現は、3 種の細胞間で差を認めなかった。分化誘導後の細胞の骨芽細胞特異的遺伝子の発現では、WT に比して、Clones #2 と #12 から誘導した骨芽細胞は、いずれも Runx2 と Osteocalcin、遺伝子の mRNA 発現が有意に低かった。このことから、低骨密度型のアレルをホモに有する細胞では、すくなくともこの誘導条件下においては、骨芽細胞への誘導能が低いか、あるいは骨芽細胞としてのフェノタイプが十分でない細胞にしかな誘導されないことが強く示唆された。Clones #2 と #12 の差異には、エピジェネティックな差異が寄与している可能性があると考えられる。

骨粗鬆症関連 SNPs が病態発現に寄与する機構の解析

