

骨吸収性疾患におけるオステオポンチン

佐伯 行彦

要旨 オステオポンチン (OPN) の骨吸収性疾患に関連した最近の知見についてわれわれの研究成果をまじえて解説した。OPN は多彩な作用をもつ一種のサイトカインであるが、とくに、破骨細胞による骨吸収において必須の分子のひとつとして知られている。

最近の研究結果から、OPN は閉経後の骨粗しょう症、関節リウマチ、多発性骨髄腫などさまざまな骨吸収性疾患において重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。OPN は、これらの骨吸収性疾患において診断や疾患活動性の指標、あるいは治療上の標的分子として注目されている。

(**キーワード**: オステオポンチン, 破骨細胞, 骨粗しょう症, 関節リウマチ, 多発性骨髄腫)

OSTEOPONTIN IN BONE-RESORBING DISEASES

Yukihiko SAEKI

Abstract I reviewed recent reports including our data regarding osteopontin (OPN) in various bone-resorbing diseases. OPN is categorized as a kind of cytokines with diverse biological functions and known as one of the key molecules for osteoclastic bone-resorption. Recent investigations have revealed that OPN plays a crucial role for the pathogenesis, especially bone destruction, in bone-resorbing diseases such as osteoporosis, rheumatoid arthritis, and multiple myeloma. OPN might be both a useful diagnostic biomarker and a potential therapeutic target for these bone-resorbing diseases.

(**Key Words**: osteopontin, osteoclast, osteoporosis, rheumatoid arthritis, multiple myeloma)

オステオポンチン (osteopontin; OPN) は、もともと骨の細胞外基質から単離された分泌型のリン酸化糖タンパク分子である¹⁾²⁾。OPN は破骨細胞、マクロファージ、活性化T細胞、平滑筋細胞や上皮細胞などさまざまな細胞により産生され、骨、腎臓、胎盤、平滑筋、腺組織など多くの組織でその発現が認められる。また、OPN はアルギニン-グリシン-アスパラギン酸 (RGD) 配列を有し、 $\alpha v \beta 1$ 、 $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ などの複数のインテグリンと結合することができ、さまざまな細胞において接着、遊走やシグナル伝達に関与し、骨吸収、血管新生、創傷の治癒などの正常組織にみられるリモデリングに関与していることが知られている³⁾。さらに、最近、骨破壊、再狭窄、動脈硬化、腎疾患、腫瘍など病態/疾患とも関わりがあることがわかってきた。また、OPN は Eta-1 (early T cell activation-1) という分子と同一分子であ

り、TH1 免疫の誘導やマクロファージの活性化など免疫系においても重要な役割を果たしていて、多彩な作用を有する一種のサイトカインと考えられている (Table 1)⁴⁾⁻⁴¹⁾。

本稿では、OPN の骨吸収性疾患に関連した最近の知見をわれわれの研究成果をまじえて紹介したい。

OPN の構造 (Fig. 1)

OPN は約400個のアミノ酸からなる、分子量約32,000のポリペプチドを骨格にもつ分泌型リン酸化糖タンパク質分子である。リン酸化や糖付加の程度により分子量は44,000-75,000に変化する。OPN はグルタミン、グルタミン酸、アスパラギン、アスパラギン酸が総アミノ酸の半数以上を占める特徴的なタンパク分子である。また、中央部にはトロンビン切断部位が存在し、そのすぐN末

国立大阪南病院 (現: 独立行政法人国立病院機構大阪南医療センター) Osaka-Minami National Hospital 臨床研究部

Address for reprints: Yukihiko Saeki, Director, Department of Clinical Research, National Hospital Organization Osaka-Minami National Hospital, 2-1 Kidohigashi-cho, Kawachinagano City, Osaka, JAPAN 586-8521

Received January 21, 2004

Accepted February 20, 2004

Table 1 Diverse Biological Functions of Osteopontin

Cell/Tissue/ Organ	Biological Functions	Reference
Bone	regulation of the deposition of minerals mechanical stress signal transduction osteoclast attachment bone resorbing diseases (osteoporosis, rheumatoid arthritis, multiple myeloma)	4, 5, 6 7, 8 9-15
Immunological System	early component of type-1 immunity augmentation of IL-12 and IFN γ production suppression of IL-10 production macrophage chemoattractant augmentation of antibody production Th1 diseases (rheumatoid arthritis, multiple myeloma)	16 17, 18 19, 20 21
Cardiovascular System	restenosis plaque formation, calcification cardiomyopathy	22, 23 24, 25 26
Renal System	suppression of NO synthesis prevention of mineral precipitation glomerulonephritis	27 28 29-31
Brain	ischemia	32
Granulomatous Tissues	wound healing, tuberculosis, sarcoidosis	33-36
Tumors	transformation, carcinoma	37-41

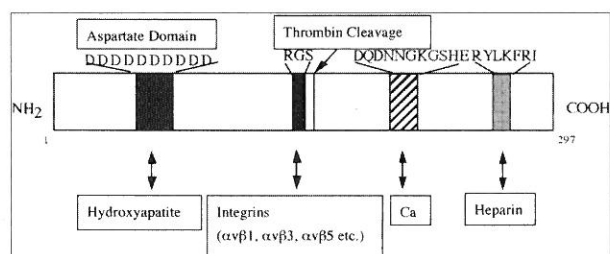


Fig. 1 A Schematic Structure of Osteopontin

端側には細胞接着ドメインと考えられる RGD 配列をもつ。さらに、カルシウムやヒドロオキシアパタイトなどに親和性の高いドメインをもち、骨などの石灰化基質に高い親和性をもつ。

破骨細胞による骨吸収における OPN の役割

最近、主にノックアウトマウスを用いた研究により、破骨細胞による骨吸収の分子機構が明らかとなってきた⁴²⁾。破骨細胞による骨吸収の最終ステップである、骨への接着には OPN と $\alpha v \beta 3$ インテグリンとの結合が必須と考えられている。実際に $\alpha v \beta 3$ インテグリンに対する抗体でこの結合を阻害すると破骨細胞による骨吸収は抑制される⁴³⁾。また、OPN ノックアウトマウスにおいては軽度の大理石病が観察され、 $\beta 3$ インテグリン ノックアウトマウスでも同様に軽度の大理石病が観察さ

れる。これらの事実から、OPN がインテグリンとの結合により破骨細胞による骨吸収において促進的な制御に関わっていることが推察される。

骨吸収性疾患

骨は、絶えず骨形成と骨吸収を繰り返し turn-over され、維持されている。したがって、正常な(健康な)骨を維持するためには骨形成と骨吸収のバランスが保たなければならない。そのバランスが破綻し、骨吸収へ傾くと病的な骨、骨吸収性疾患を生じることになる。骨吸収性疾患は、(1) 非炎症性のもの、(2) 炎症性のもの、(3) 腫瘍性のものの、大きく3つに分けることができる。まず、非炎症性の骨吸収性疾患は加齢や女性ホルモンの減少などを原因とする

もので、代表的なものとして閉経後の骨粗しょう症がある。次に炎症性のものとしては、関節リウマチ (RA) をはじめとするリウマチ性疾患がある。また、腫瘍性のものとしては多発性骨髄腫が挙げられる。

最近、これらの骨吸収性疾患において、OPN の関与を示唆する報告がみられる。

非炎症性骨吸収性疾患とオステオポンチン

OPN のノックアウトマウスは正常に生まれ、出産し、胎児数や寿命においても野生型とほぼ同等である。しかしながら、野田らのグループにより、閉経後骨粗しょう症の実験モデルである卵巣摘出マウスにおける骨吸収は OPN ノックアウトマウスでは野生型に比べて有意に抑制されることが報告されている⁹⁾。このことから、閉経後の骨粗しょう症における骨吸収の亢進に OPN の関与が示唆されている。

炎症性骨吸収性疾患とオステオポンチン

われわれは、実験的関節炎モデルである、コラーゲン誘導関節炎 (CIA) において、破骨細胞がまさに骨吸収をしている骨びらん部位に限局して、OPN の発現がみられることをタンパク、mRNA レベルで報告した (Fig. 2)¹⁰⁾。また、関節炎の進行と平行して血中の OPN レベルの上昇がみられる (Fig. 3)。一方、野田らのグルー

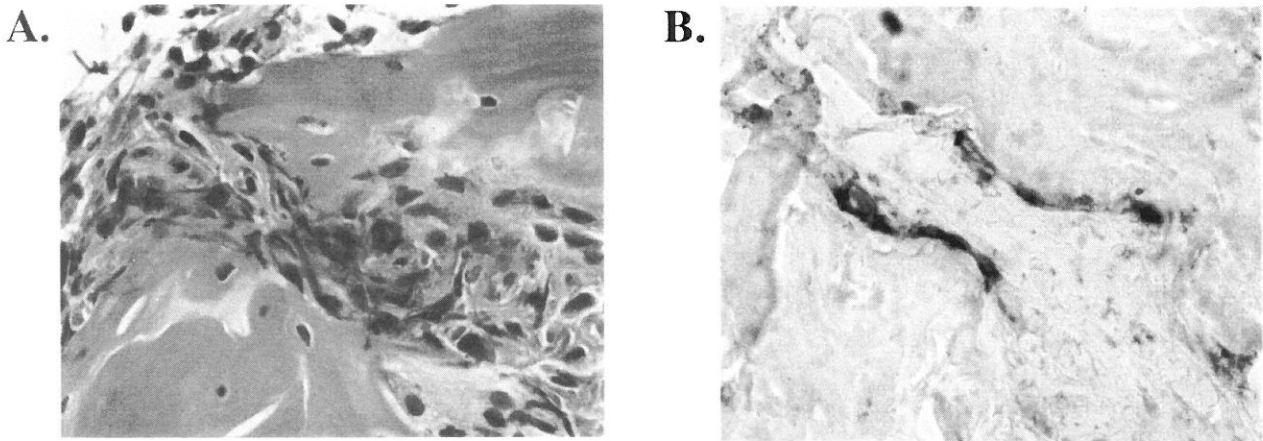


Fig. 2 Expression of osteopontin (opn) mRNA in arthritic paws from a mice with collagen-induced arthritis (CIA). Serial sections of arthritic paws were stained with hematoxylin eosin and in situ hybridization was performed using a primer specific for OPN mRNA. A ; hematoxylin eosin stain, B ; in situ hybridization OPN mRNA expression was detected at the bone-pannus junction, co-incident with the presence of multinucleated giant cells which stained positive for tartrate-resistant acid phosphatase, suggesting activated osteoclasts. (Original magnification x400) (Arthritis Rheumatism から許可の上転載した)

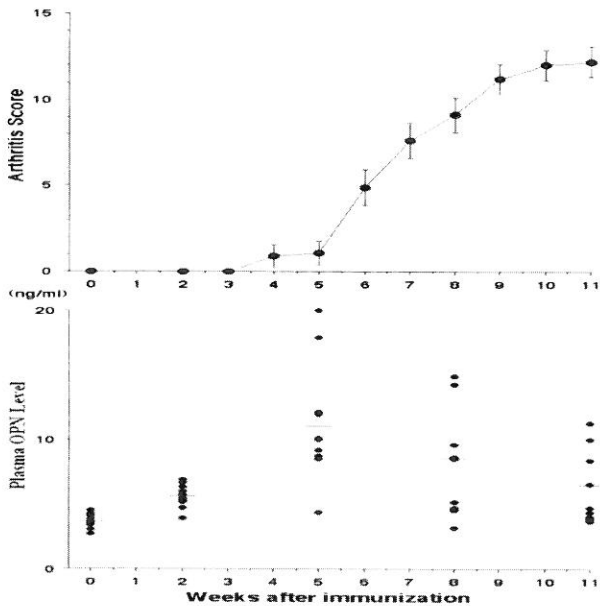


Fig. 3 コラーゲン誘導関節炎 (CIA) マウスの血中 OPN レベルの推移 (Arthritis Rheumatism から許可の上転載した)

プは抗タイプ II コラーゲン抗体で誘導する実験的関節炎 (CAIA) において、OPN ノックアウトマウスでは、野生型に比べて骨吸収が抑えられると報告している¹¹⁾。この OPN ノックアウトマウスの結果については、われわれや他の研究者の報告では、有意な抑制はみられず¹²⁾¹³⁾、マウスの遺伝的背景 (とくに関節炎に対する疾患感受性) の相違や OPN の作用における redundancy の存在が示唆されている^{14) 45)}。このようなマウスにおける実験結

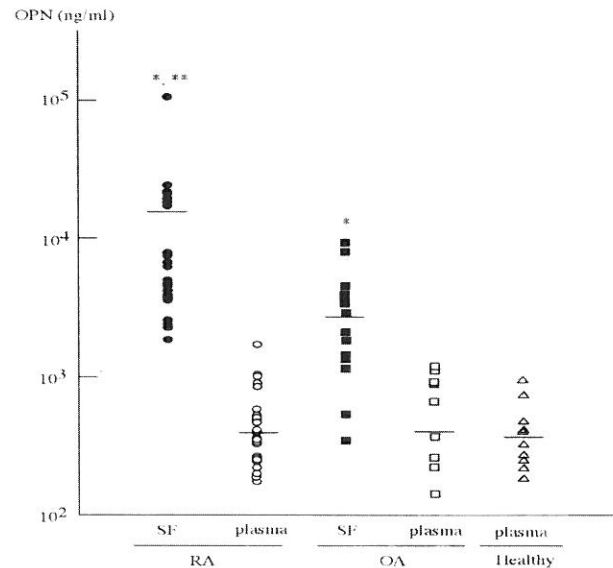


Fig. 4 関節リウマチ, 変形性関節症, 健常人における血中, 関節液中の OPN レベル RA ; rheumatoid arthritis, OA ; osteoarthritis, SF ; synovial fluid *SF OPN levels vs plasma, $p < 0.05$, **SF OPN levels, RA VS OA, $p < 0.05$ (Journal of Rheumatology から許可の上転載した)

果から、関節炎における骨吸収においても OPN が促進的に作用していることが示唆されている。実際に、炎症性関節炎の代表的疾患である RA においても滑膜組織での OPN の発現は亢進し、RA の関節液中には健常人の血中レベルの約 10-1,000 倍の OPN が存在することが判明した (Fig. 4)¹²⁾。このことから、RA の関節局

所では、大量の OPN が産生され、骨吸収を促進していることが示唆される。この関節液中の OPN レベルは CRP などの炎症のマーカーと相関しており、RA の疾患活動性と関連している¹²⁾。また、in vitro において OPN は軟骨細胞に働いて、MMP-1 (matrix metalloproteinase-1, collagenase-1) の産生を誘導することも報告されている¹³⁾。さらに、RA の血中ではトロロンピンで分断された OPN が増加しており¹²⁾、最近、OPN の潜在的エピトープの重要性も指摘されている¹⁴⁾。

腫瘍性骨吸収性疾患とオステオポンチン

腫瘍性骨吸収性疾患の代表的なものとして多発性骨髄腫 (multiple myeloma; MM) がある。多発性骨髄腫は形質細胞の悪性腫瘍であるが、全身性の骨吸収性骨破壊をひとつの特徴とし、このために強い骨痛や病的骨折などが臨床的大きな問題となることが多い。MM の骨吸収部位には他の骨吸収性疾患の場合と同様に活性化された破骨細胞が観察されることから、MM の骨吸収も主に破骨細胞による骨吸収の亢進が原因と考えられている。そして、以前から骨髄腫細胞から破骨細胞活性化因子 (osteoclast activating factor; OAF) が産生されているものと推察されている。OAF については、IL-1, TNF β , IL-6 などの炎症性サイトカインが候補として考えられていたが、まだ、直接的な責任分子は同定されていない。最近、われわれは MM 患者の血清中の OPN レベルが、健常人や MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance; MGUS, MM の前臨

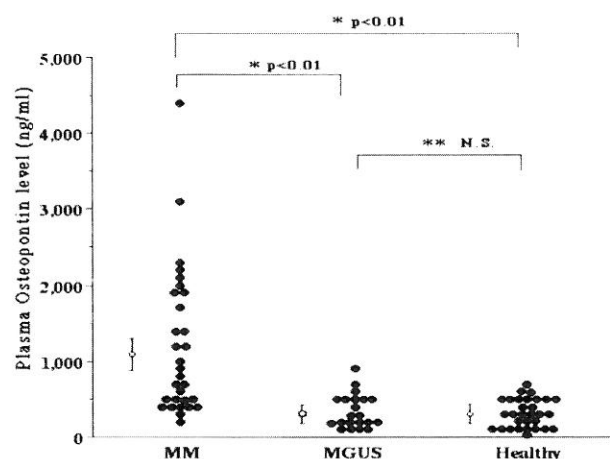


Fig. 5 多発性骨髄腫 (MM), 良性単ガンマグロブリン血症 (MGUS; monoclonal gammopathy of undetermined significance), 健常人 (Healthy; healthy volunteers) の血中 OPN レベル (British Journal of Haematology から許可の上転載した)

床状態の良性単ガンマグロブリン血症) 患者に比べ有意に上昇していることを見いだした (Fig. 5)¹⁵⁾。また、この MM 患者の血中の OPN レベルは、臨床病期や骨病変の有無と相関することを明らかにした¹⁵⁾。さらに、MM 患者の骨髄細胞や MM 患者由来の cell line が大量の OPN を産生することを示した¹⁵⁾。このことから、腫瘍性骨吸収性疾患の MM における骨吸収の原因分子としての OPN の関与が示唆される。

おわりに

OPN は組織のリモデリングに関わる多彩な作用をもつサイトカインであり、種々の疾患において注目されている。また、前述のように OPN は Eta-1 と同一分子でもあり、TH1 免疫誘導作用やマクロファージ活性化作用をもつ、いわば、骨代謝系と免疫系におけるクロストーク分子と考えられ、RA のように骨代謝系と免疫系の両方の側面をもつ疾患においては、重要な診断、活動性の指標や治療上の標的分子となることが考えられる。

文 献

- 1) Prince CW, Oosawa T, Butler WT et al: Isolation, characterization, and biosynthesis of a phosphorylated glycoprotein from rat bone. *J Bio Chem* **262**: 2900-2907, 1987
- 2) Oldberg A, Franzen A, Heinegard D: Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell binding sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* **83**: 8819-8823, 1986
- 3) Denhartdt DT, Guo X: Osteopontin: a protein with diverse functions. *FASEB J* **7**: 1475-1482, 1993
- 4) Bosky AL, Maresca M, Ullrich W, et al: Osteopontin-hydroxyapatite interactions in vitro: Inhibition of hydroxyapatite formation and growth in a gelatin gel. *Bone Miner* **22**: 147-59, 1993
- 5) Hunter GK, Hauschka PV, Poole AR, et al: Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue protein. *Biochem J* **317**: 59-64, 1996
- 6) Ishijima M, Rittling SR, Yamashita T et al: Enhancement of osteoclastic bone resorption and suppression of osteoblastic bone formation in response to reduced mechanical stress do not occur in the absence of osteopontin. *J Exp Med*

- 193 : 399-404, 2001
- 7) Ross FP, Chappel J, Alvarez JI et al : Interaction between the bone matrix proteins osteopontin and sialoprotein and the osteoclast integrin avb3 potentiate bone resorption. *J Biol Chem* **268** : 9901-9907, 1993
 - 8) Miyauchi A, Alvarez JI, Greenfield EM et al : Recognition of osteopontin and related peptides by an avb3. *J Biol Chem* **266** : 20369-20374, 1991
 - 9) Yoshitake H, Rittling SR, Denhardt DT et al : Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption. *Proc Natl Acad Sci USA* **96** : 8156-8160, 1999
 - 10) Ohshima S, Kobayashi H, Yamaguchi N et al : Expression of osteopontin at sites of bone erosion in a murine experimental arthritis of collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* **46** : 1094-1101, 2002
 - 11) Yumoto K, Ishijima M, Rittling SR et al : Osteopontin deficiency protects joints against destruction in anti-type II collagen antibody induced arthritis in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **99** : 4556-4561, 2002
 - 12) Ohshima S, Yamaguchi N, Nishioka K et al : Enhanced local production of osteopontin in rheumatoid joints. *J Rheumatol* **29** : 2061-2067, 2002
 - 13) Petrow PK, Hummel KM, Schedel J et al : Expression of osteopontin messenger RNA and protein in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **43** : 1597-15605, 2000
 - 14) Yamamoto N, Sakai F, Kon S et al : Essential role of the cryptic epitope SLAYGLR within osteopontin in a murine model of rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* **112** : 181-188, 2003
 - 15) Saeki Y, Mima T, Ishii T et al : Enhanced production of osteopontin in multiple myeloma : clinical and pathogenic implications. *Br J Haematol* **123** : 263-270, 2003
 - 16) Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V et al : Eta-1 (osteopontin) : an early component of type-1 (cell mediated) immunity. *Science* **287** : 860-864, 2000
 - 17) Jansson M, Panoutsakopoulou V, Baker J et al : Cutting edge : Attenuated experimental autoimmune encephalomyelitis in eta-1/osteopontin deficient mice. *J Immunol* **168** : 2096-2099, 2002
 - 18) Chabas D, Baranzini SE, Mitchell D et al : The influence of the proinflammatory cytokine, osteopontin on autoimmune demyelinating disease. *Science* **294** : 1731-1735, 2001
 - 19) Singh RP, Patarca R, Schwartz J et al : Definition of a specific interaction between the early T lymphocyte activation 1 (Eta-1) protein and murine macrophages in vitro and its effects upon macrophages in vivo. *J Exp Med* **171** : 1931-1942, 1990
 - 20) Giachelli CM, Lombardi D, Johnson RJ et al : Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am J Pathol* **152** : 53-58, 1998
 - 21) Lampe MA, Patarca R, Iregui MV et al : Polyclonal B cell activation by Eta-1 cytokine and the development of systemic autoimmune disease. *J Immunol* **147** : 2902-2906, 1991
 - 22) Liaw L, Almeida M, Hart CE et al : Osteopontin promotes vascular cell adhesion and spreading and is chemotactic for smooth muscle cells in vitro. *Cir Res* **74** : 214-224, 1994
 - 23) O'Brien ER, Garvin MR, Stewart DK et al : Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Throm* **14** : 1648-1656, 1994
 - 24) Chiba S, Okamoto H, Kon S et al : Development of atherosclerosis in osteopontin transgenic mice. *Heart Vessels* **16** : 111-117, 2002
 - 25) Fitzpatrick LA, Severson A, Edwards WD et al : Association of osteopontin with atherosclerosis. *J Clin Invest* **94** : 1597-1604, 1994
 - 26) Williams EB, Halpert I, Wickline S et al : Osteopontin increased in the heritable cardiomyopathy of Syrian hamsters. *Circulation* **92** : 705-709, 1995
 - 27) Worcester EM, Blumenthal SS, Beshensky AM et al : The calcium oxalate crystal growth inhibitor protein produced by mouse kidney cortical cells in culture is osteopontin. *J Bone Miner Res* **7** : 1029-1036, 1992
 - 28) Hwang SM, Lopez CA, Heck DE et al :

- Osteopontin inhibits induction of nitric oxide synthetase gene expression by inflammatory mediators in mouse kidney epithelial cells. *J Biol Chem* **269** : 711-715, 1994
- 29) Pichler R, Giachelli CM, Lombardi D et al :
ubulointerstitial disease in glomerulonephritis :
Potential role of osteopontin. *Am J Pathol* **144** : 915-926, 1994
- 30) Pichler R, Franceschini N, Young BA et al :
Pathogenesis of cyclosporine nephropathy : Roles
of angiotension II and osteopontin. *J Am Soc
Mephrol* **6** : 1186-1196, 1995
- 31) Lan HY, Yu XQ, Yang N et al : De novo
glomerular osteopontin expression in rat
crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int* **53** :
136-145, 1998
- 32) Wang X, Louden C, Yue TL et al : Delayed
expression of osteopontin after focal stroke in
the rat. *J Neurosci* **18** : 2075-2083, 1998
- 33) O' Regan A, Berman JS : Osteopontin, a key
cytokine in cell-mediated and granulomatous
inflammation. *Int J Exp Pathol* **81** : 373-390,
2000
- 34) Nau GJ, Guifoile P, Chupp GL et al
: A chemoattractant cytokine associated with
granulomas in tuberculosis and silicosis. *Proc
Natl Acad Sci USA* **94** : 6414-6419, 1997
- 35) Chiba S, Rashid MM, Okamoto H et al :
The role of osteopontin in the development
of granulomatous lesions in lung. *Microbiol
Immunol* **44** : 319-332, 2000
- 36) O' Regan AW, Hayden JM, Body S et al :
Abnormal pulmonary granuloma formation in
osteopontin-deficient mice. *Am J Respir Crit
Care Med* **164** : 2243-2247, 2001
- 37) Senger DR, Perruzzi CA, Papadopoulos A :
Elevated expression of secreted phosphoprotein I
(osteopontin, 2ar) as a consequence of neoplastic
transformation. *Anticancer Res* **9** : 1291-1300, 1989
- 38) Brown LF, Papadopoulos A, Berse B et al
: Osteopontin expression and distribution in
human carcinomas. *Am J Pathol* **146** : 95-100,
1994
- 39) Yeatman TJ, Chambers AF : Osteopontin and
colon cancer progression. *Clin Exp Metastasis*
20 : 85-90, 2003
- 39) Kim JH, Skates SJ, Uede T et al : Osteopontin
as a potential diagnostic biomarker for ovarian
cancer. *JAMA* **287** : 1671-1669, 2002
- 40) Chambers AF, Wilson SM, Kerlvliet N et al :
Osteopontin expression in lung cancer. *Lung cancer*
15 : 311-323, 1996
- 41) Rodan GA, Martin TJ : herapeutic approaches
to bone diseases. *Science* **289** : 1508-1514, 2000
- 44) Crippes BA, Engelman VW, Settle SL et al
: Antibody to b3 integrin inhibits osteoclast-
mediated bone resorption in the thyropara-
thyroidectomized rat. *Endocrinology* **137** : 918-
924, 1996
- 45) Blom T : Comment on "The influence of the
proinflammatory cytokine, osteopontin, on
autoimmune demyelinating disease" . *Science*
299 : 1845, 2003
- 46) Ishii T, Ohshima S, Ishida T et al : Osteopontin-
deletion remains predisposed to collagen-induced
arthritis (CIA). *Arthritis Rheum* **50** : 669-671,
2004
- (平成15年10月15日受付)
(平成16年2月20日受理)