

## 平成 21 年度 博士学位論文要旨

## 骨中コラーゲン高親和性タンパク質の特性と骨形成過程における役割に関する研究

学位の種類： 博士（健康科学）

首都大学東京大学院 人間健康科学研究科 人間健康科学専攻  
フロンティアヘルスサイエンス学域

氏名：村上 拓治

（指導教員名： 井上 順雄 教授）

脊椎動物の骨は骨芽細胞と破骨細胞との共同作業により維持されている。骨の形成は、I型コラーゲンを中心とする有機基質へのカルシウム沈着が特徴的であり、多くの非コラーゲン性タンパク質により微妙に調節されているものと考えられている。近年、脊椎動物と軟体動物の骨格を形成する骨と貝殻の真珠層に、共通の機能をもつタンパク質が存在する可能性が示唆されている。本研究では、貝殻中の酸性タンパク質の抽出に有効であった酢酸脱灰法を骨に応用し、骨中から新規酸性タンパク質を探索した。その結果、酢酸可溶性画分中に多量に含まれるコラーゲンと共存する Glu を含む酸性タンパク質が微量に存在する可能性が見出された。この酸性タンパク質は貝殻の Poly-Asp 構造に、コラーゲンは貝殻の Poly-Gly 構造にそれぞれ対応し、共通の機能を果たしていると予想した（第1章）。この酸性タンパク質は、クロマトグラフィーによる精製過程でコラーゲンと共に挙動するコラーゲン高親和性タンパク質であり、分離、同定するためには、選択的にコラーゲンを分離し除去する必要があった。そこで、コラーゲンに特有な  $-(\text{Gly-X-Y})_n-$  配列を特異的に切断する細菌性コラゲナーゼに着目し、効率のよいコラーゲン高親和性タンパク質の精製方法を開発した。この方法により検出された数種の酸性タンパク質は、Asx 及び Glx に富む点で多くの既知の非コラーゲン性タンパク質と共通していた。しかし、これらの互いに性質の似たコラーゲン高親和性タンパク質は、コラゲナーゼ処理によりコラーゲンという支持体を失って互いに会合していると予想され、これ以上の分離が困難であった（第2、3章）。そこで、プロテオーム解析法を適用したが、二次元電気泳動および MALDI-TOF MS 分析による分離、検出が難しく、これまでに単離、同定には至っていない（第4章）。一方、骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 細胞の培養系を用いて、コラーゲン高親和性タンパク質の骨形成過程に及ぼす影響を検討した結果、コラーゲン高親和性タンパク質はタンパク質の集積と骨基質の石灰化を促進する機能をもつことが示唆された（第5章）。以上の特性と機能から、コラーゲン高親和性タンパク質は、骨形成過程において細胞外で形成されるコラーゲン線維周辺のカルシウムイオンを濃縮し、骨基質を石灰化が誘導される環境へと調整する役割を果たすものと推測された。今後、有効な分離、同定法の開発が課題となるが、コラーゲン高親和性タンパク質の同定により、コラーゲン性石灰化メカニズムの解明や、これら新規タンパク質をプローブとした骨粗鬆症などの病態、予防および治療への応用が期待される。