

論 文 内 容 要 旨

題目 Single-cell RNA sequencing identifies *Fgf23*-expressing osteocytes in response to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> treatment (シングルセルRNAシーケンシングによる1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>反応性 *Fgf23*発現骨細胞の同定)

著者 Ayako Hanai, Ayako Kawabata, Kenta Nakajima, Kazuhiro Masuda, Itaru Urakawa, Masahiro Abe, Yuji Yamazaki, Seiji Fukumoto  
2023年1月27日発行  
Frontiers in Physiology 第14巻に発表済  
Article number: 1102751  
DOI: 10.3389/fphys.2023.1102751

内容要旨

Fibroblast growth factor 23 (FGF23) は、主に骨細胞で産生され、リン酸代謝を制御している。一方、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>はFGF23の産生を促進することが報告されている。骨細胞はその分布や機能から、遺伝子発現における多様性を持つ細胞群であることが想定されるが、FGF23産生骨細胞の遺伝子発現における特徴はこれまでに報告がない。

Single-cell RNA-sequencing (scRNA-seq) 技術は、一細胞レベルでのトランスクリプトーム解析を可能とした。近年、骨組織のscRNA-seq解析例が報告されているが、骨細胞は基質に埋没した状態で存在するため、生細胞を単離することは技術的に難しく、これまでに *Fgf23* 発現骨細胞を同定した scRNA-seq 解析の報告はない。本研究では、マウス大腿骨からカルシトリオール (1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>) に反応して *Fgf23* を発現する骨細胞の遺伝子発現の特徴を scRNA-seq で解析した。

まず、*in situ* hybridization によりマウス骨細胞における Dentin matrix protein 1 (*Dmp1*)、Matrix extracellular phosphoglycoprotein (*Mepe*)、Phosphate regulating endopeptidase X-linked (*Phex*) の特異的発現を確認し、これらを骨細胞のマーカー遺伝子として使用した。脱灰、酵素処理、CD45 陽性細胞の除去を行った後、得られた単離細胞群を scRNA-seq 解析に供した。

マウス大腿骨の構成細胞を遺伝子発現により 18 の細胞クラスターに分類し、マーカー遺伝子の発現から、骨細胞を含む細胞群を同定した。カル

シトリオール投与群では非投与群と比較し、骨細胞の前駆細胞である骨芽細胞、軟骨細胞中の vitamin D receptor (*Vdr*) 発現細胞が減少し、*Fgf23* を発現する骨細胞が増加していた。この *Fgf23* 発現骨細胞では、*Bglap*、*Comp*、*Col2a1* など骨芽細胞、軟骨細胞マーカー遺伝子の発現が非投与群の *Vdr* 発現細胞に比べて低下していた。また、カルシトリオール投与により *Fgf23* 発現骨細胞では VDR 下流遺伝子の発現が変動したが、*Fgf23* 非発現骨細胞では変動がなかった。したがって、カルシトリオール投与により、*Vdr* を発現している骨芽細胞が選択的に骨細胞へ分化し、*Fgf23* 発現が誘導されると考えられた。

さらに、*Fgf23* の発現が認められた骨細胞では、FGF23 関連低リン血症疾患の原因となる不活性化変異の報告がある *Fam20c*、*Dmp1*、*Phex* の発現が増加していた。この結果から、これらの FGF23 関連低リン血症疾患の原因遺伝子も FGF23 の発現制御に関与していることが推察された。

本研究により、*Vdr* 発現に依存したカルシトリオールに対する反応性が骨細胞の多様性を生じ、カルシトリオールに応答し骨芽細胞から分化した骨細胞が *Fgf23* 発現能を有している可能性を示した。