Osaka University Knowledge Archive

Title	Advanced Glycation Endproducts Stimulate Interleukin-6 Production by Human Bone-Derived Cells
Author(s)	高木, 美紀
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41271
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

【 22 】

氏　　名	髙　木　美　紀（たかぎ みき）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　14019　号
学位授与年月日	平成10年4月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Advanced Glycation Endproducts Stimulate Interleukin-6 Production by Human Bone-Derived Cells （グリケーション最終産物（AGE）はヒト骨芽細胞のインターロイキン6産生を促進する）
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 岸本 忠三　教 授 松澤 佑次 （副査） 教 授 吉崎 和幸　教 授 岡田伸太郎

論 文 内 容 の 要 旨

（目的）

加齢や糖尿病では骨減少症がみられるが，その分子機構は不明である。最近，老齢ラットや糖尿病ラットのコラーゲンにグリケーション最終産物（AGE）が生成することが報告された。したがって，AGEは老人性骨粗鬆症や糖尿病性骨減少症の成因となる可能性が想定される。一方，種々の骨減少性疾患の発症において骨吸収性サイトカインの関与が明らかにされつつある。今回，培養ヒト骨芽細胞を用いてAGEの骨芽細胞における骨吸収性サイトカインの産生とその分子機構についての解析を行った。

（方法ならびに成績）

1．AGE-BSAはBSAを8週間G-6-Pとインキュベートすることにより作成した。骨芽細胞は4例の患者より手術時に採取したヒト海綿骨より既報の方法（J. Bone Mineral Res 6：45，1991）を用いて培養した。培養骨芽細胞を0.1% FCSを含むDMEM培地下にAGE-BSAを添加し，2日後の培養液中の各サイトカイン濃度をELISA法により測定した。その結果AGE-BSA刺激により細胞培養液中のIL-6活性の上昇が認められた。また，このIL-6活性および細胞中IL-6 mRNA量（ノーザンブロット法）はAGE-BSAの濃度依存性に増加した。一方，AGE-BSAは細胞培養液中のIL-11濃度には影響を与えず，またIL-1α，IL-1β濃度はいずれも感度以下（<1.0 pg/ml）であった。AGE-BSAは細胞中のアルカリフォスファターゼ活性（Bessey-Lowry法により測定）やDNA含量（フルオロメトリー法により測定）には影響を与えなかった。

2．培養骨芽細胞よりRNAを抽出し，これを用いてヒトRAGE（AGE受容体）に特異的なプライマーを用いたRT-PCRを行った。その結果，ヒト骨芽細胞においてRAGE mRNAが発現することが判明した。

3．マウス骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1をAGE-BSA刺激したところ，培養液中IL-6活性の増加を認めた。MC3T3-E1細胞をAGE-BSAで刺激後核蛋白を抽出し，[^{32}P]ATPで標識したNF-κB結合配列を含むオリゴヌクレオチド（κBオリゴ）をプローブとしたゲルシフト法による解析を行った。その結果，AGE-BSA添加によりκBオリ

ゴと結合するバンドの増加を認め，これは添加後4から6時間で最大であった。このバンドは過剰の非標識κBオリゴにより抑制されたが，無関係のオリゴヌクレオチドによっては抑制されなかった。また核蛋白をp50またはp65に対する抗体と反応させて行ったゲルシフト法では，このバンドのスーパーシフトを認めた。

（総括）

培養ヒト骨芽細胞においてRAGEの発現をはじめて証明した。また培養骨芽細胞において，AGEは転写因子NF-κBの活性化を促進し，骨吸収サイトカインのうちIL-6の産生のみを促進することをはじめて明らかにした。

論文審査の結果の要旨

加齢による老人性骨粗鬆症や糖尿病性骨粗鬆症の原因は未だ明らかにされていない。この論文は，これらの病態で体内に増加するグリケーション最終産物（AGE）がその原因の一つではないかという新しい視点にたった独創的なものである。すなわち，かねてよりIL-6が強力な骨吸収サイトカインとして報告されていたが，AGEがNF-κBの活性化をとおして骨におけるIL-6の産生を誘導し，骨粗鬆症を引き起こすという可能性を初めて指摘したきわめて興味深い論文であり，学位に値すると考える。