



Title	Osteopontin as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis
Author(s)	石井, 泰子
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/45529
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	いしい はつとり たえ こ 石井 (服部) 泰 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19290 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Osteopontin as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis (関節炎の破骨細胞分化における正の制御因子、オステオポンチン)
論文審査委員	(主査) 教 授 川瀬 一郎 (副査) 教 授 吉川 秀樹 教 授 内山 安男

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

関節リウマチは発症頻度の高い全身性自己免疫疾患である。その病因は不明であるが、種々の炎症性サイトカインやリンパ球・マクロファージなどの免疫担当細胞が病態に関わっていることが知られている。また、患者の QOL を著しく低下させる関節破壊には破骨細胞が重要な役割を果たしていることが明らかとなってきた。われわれは、主要な骨基質蛋白質であり、Th1 サイトカインとしても知られるオステオポンチン (OPN) に注目し、OPN が関節炎における破骨細胞活性化に果たす役割について解析を行った。

[方法ならびに成績]

1) コラーゲン誘導関節炎 (CIA) からの破骨細胞分化モデル

マウス関節炎モデルである CIA を野生型マウスと OPN 欠損 (OPN ^{-/-}) マウスに導入し、関節炎罹患関節から回収した細胞を用いて、*in vitro* での破骨細胞分化モデルを確立した。CIA 感受性を導入するため OPN ^{-/-} マウスは DBA/1J マウスと 6 世代掛け合わせ、実験には野生型と OPN ^{-/-} の littermate を利用した。それぞれのマウスを day 0 と day 21 にコンプリートアジュバンドとともに II 型コラーゲンで免疫し、CIA を誘導した。day 35 に関節炎組織を酵素処理して細胞を分離し、10% FCS を含む α -MEM 培地で 7 日間培養した。この分化モデルにおいては、破骨細胞分化誘導因子を外部から添加することなく、TRAP 陽性で骨吸収能を有する多核の破骨細胞様細胞 (OCL) が誘導可能であった。

つづいて real time PCR を用いて CIA 罹患関節から分離した細胞について破骨細胞分化の必須因子とされる ligand for receptor activator of NF κ B (RANKL)、RANKL の decoy receptor である osteoprotegerin (OPG) の mRNA 量を定量した。正常関節と比較して関節炎部の細胞においては RANKL の発現が亢進し、OPG の発現が抑制されていた。また、培養液中に OPG を添加することで OPG 濃度依存性に OCL の数が減少した。

以前より、われわれはマウスの関節炎モデルやヒトの関節リウマチにおいて免疫染色や *in situ hybridization* を行い、炎症関節で OPN の発現が亢進していることを報告している。今回、関節炎より採取した細胞の培養上清につい

て ELISA を行い、これらの細胞が大量の OPN を分泌していることを確認した。また、培養上清に OPN 中和抗体を添加すると、OCL の数は減少した。さらに、OPN^{-/-}マウスから採取した関節炎細胞に OPN を補充することで、RANKL 発現が亢進し、OCL 数の増加を認めた。

2) stromal cell line、ST2 に OPN を添加した際の RANKL、OPG mRNA 発現量

RANKL、OPG の代表的な供給源とされる stromal cell に OPN を添加し、RANKL、OPG の mRNA 発現量の変化を real time PCR を用いて検討した。マウスの骨髄 stromal cell line である ST2 に対して、培養液中に種々の薬剤を添加した。活性型ビタミン D やデキサメサゾン は stromal cell に作用し、RANKL 発現を誘導し、OPG 発現を抑制することにより破骨細胞分化を促進することが知られている。OPN はこれらの因子と同様に ST2 に作用し、RANKL mRNA を増加させ、OPG mRNA を減少させた。

[総 括]

OPN はインテグリン $\alpha V \beta 3$ を介して破骨細胞に作用し、破骨細胞の細胞骨格変化をもたらし、骨との接着を強化することで、骨吸収の効率化に寄与することが報告されている。今回の結果により、新たに、OPN が stromal cell にも作用し、破骨細胞分化を促進する可能性が示唆された。また、関節炎において OPN は関節局所で大量に産生されることから、OPN 産生あるいは OPN 活性を抑制することが、破骨細胞の活性化を抑え、関節破壊の予防につながる有用な治療法になりうると思われる。

論文審査の結果の要旨

関節炎における骨破壊について、オステオポンチン (OPN) が破骨細胞分化亢進に関与することを示した論文である。関節炎モデルマウスを用い、in vitro での破骨細胞様細胞 (OCL) 分化モデルを作成している。関節炎組織では破骨細胞分化因子、RANKL の発現が亢進し、RANKL の decoy receptor である OPG の発現が低下しており、主に RANKL/OPG のバランス変化が OCL の分化亢進につながると考えられた。一方、関節炎組織からは OPN が大量に分泌され、OPN 中和抗体を添加することにより OCL 分化が抑制され、一方 OPN 欠損細胞に OPN を補充すると OCL 分化促進を認めた。さらにストローマ細胞に OPN を添加すると、RANKL/OPG 発現が変化した。以上より、関節炎において、OPN がストローマ細胞に作用し、RANKL/OPG の発現変化をもたらす OCL 分化が促進すると考えられた。本論文は学位に値するものと認める。