The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Osteopontin as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis
Author(s)	石井, 泰子
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45529
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名	石井（服部）泰　子（いしい はっとり たえこ）
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 NFκB（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αVβ3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し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。