

Title	Inflammatory osteoclastogenesis can be induced by GM-CSF and activated under TNF immunity
Author(s)	野村, 幸嗣
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48991
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について <a>〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 野 村 幸 嗣

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学位記番号 第 21846 号

学位授与年月日 平成 20 年 3 月 25 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科臓器制御医学専攻

学位論文名 Inflammatory osteoclastogenesis can be induced by GM-CSF and activated under TNF immunity
(炎症性関節疾患における破骨細胞形成)

論文審査委員 (主査)

教授 吉川 秀樹

(副査)

教授 大菌 恵一 教授 菅本 一臣

論文内容の要旨

[目 的]

関節リウマチを始めとする炎症性関節疾患では、破骨細胞の過剰な形成や活性化が起こっていることが知られている。同様に破骨細胞の過剰な活性化が起こっている疾患である骨粗鬆症と比べてみても、その病状や病態には大きな差異があり、炎症という環境要因が、この差異に深く関わっていると考えられる。GM-CSF は関節炎症部で上昇し、炎症を惹起することが知られているが、破骨細胞形成に対しては抑制的である。我々は、炎症性関節疾患において、GM-CSF に抵抗性のある破骨細胞の存在を想定し、その機能を検討した。

[方法ならびに成績]

ヒト末梢血より Ficoll 遠心分離法を用い単核球を抽出し、続いて磁気細胞分離法により CD14 陽性細胞を単離した。破骨細胞前駆細胞を誘導する際、これに M-CSF を加えるのが一般的であるが、今回、我々は、炎症時にのみ産生される GM-CSF、あるいは GM-CSF+TNF α を加え 7 日間培養し、破骨細胞前駆細胞を誘導することにした。各々の誘導細胞 (以下 GM-OP/TNF-OP) は円形の付着細胞で、表面マーカーを FACS にて調べたところ、CD80+CD86+CD11b+CD14+ であり、それらのマーカーは破骨細胞前駆細胞として知られる従来の樹状細胞やマクロファージとは異なっていた。

破骨細胞分化や破骨能検討のため、sRANKL+M-CSF を加え、骨基質プレート及び dentine 上でさらに 14 日間培養し、その骨吸収領域の計測、TRAP 染色を施行した。GM-OP、TNF-OP のいずれの細胞も、TRAP 陽性多核巨細胞へと分化し、基質プレートや dentine 上での骨吸収領域を認めた。それらのサイズは、単球より RANKL+M-CSF で誘導される従来の破骨細胞に比べ著しく小さかった。また、GM-OP に比べ、TNF-OP では、TRAP 陽性多核巨細胞数や基質プレート上での骨吸収領域は有意に増強していた。さらに免疫蛍光染色を行ったところ、これらの破骨細胞における、Cathepsin K (CATK) の陽性や Actin ring の形成も確認された。

次に、これらの破骨細胞誘導時に GM-CSF を加え、破骨細胞形成に対する影響を検討した。従来の破骨細胞は、過去の報告に従い、GM-CSF 存在下で破骨細胞分化が著しく抑制されたが、GM-OP や TNF-OP は、GM-CSF に抵

抗し破骨細胞へと分化した。むしろ、その TRAP 陽性多核巨細胞数は、GM-CSF により有意に増強していた。ところが、破骨能はいずれの細胞も抑制された。

[総 括]

我々の用いた GM-OP/TNF-OP は、従来の樹状細胞やマクロファージなどの破骨前駆細胞とは異なる、新たな破骨前駆細胞であり、GM-CSF が過剰な関節炎症部で破骨細胞に分化することができ、TNF α の存在下で、さらに強い破骨能を獲得できることを示した。これらから分化する破骨細胞は、形態的にも機能的にも破骨細胞の条件を満たすが、その大きさや GM-CSF への抵抗性等、従来の破骨細胞とは著しく異なる点があり、炎症性関節疾患に特異的な破骨細胞であると考えられた。以上のことから、炎症性関節疾患では、従来と異なる破骨細胞形成機序の存在が示唆され、今後のさらなる研究により炎症性関節疾患における新たな治療法の展開が期待されると考えられる。

論文審査の結果の要旨

GM-CSF は、顆粒球やマクロファージを誘導するサイトカインとして報告されたが、定常状態ではほとんど確認することができず、自己免疫疾患などの多くの炎症性疾患で上昇しており、炎症性サイトカインとしても知られている。関節リウマチにおいても、関節局所での GM-CSF の上昇が認められるが、その詳細は知られていない。GM-CSF は、破骨細胞形成に対しては抑制的に働いていることが報告されており、関節リウマチでは、GM-CSF は炎症を著しく増強させる一方で、骨関節破壊を抑制するという不合理が生じていることになる。

著者らは、非炎症時に起こる破骨細胞形成と、炎症時にのみ起こる破骨細胞形成には、違いがあると考え、GM-CSF が炎症時の破骨細胞形成において如何なる役割を担っているかを検討した。CD14 陽性細胞から GM-CSF により誘導される細胞が、炎症時の破骨前駆細胞となり、破骨細胞へと分化することを明らかにした。この細胞は、TNF α の存在下で分化を増強させ、また GM-CSF により分化は抑制されないことを示した。

本研究は、関節リウマチなどの炎症性関節疾患で生じていると考えられる「炎症性の破骨細胞形成」の存在を初めて報告し、従来の破骨細胞形成とは異なるメカニズムを持つことを示したもので、今後の関節リウマチの研究への発展性を期待できるものであり、学位の授与に値すると考えられる。