

氏名	鶴 飼 太 郎
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	薬 学
学位授与番号	博乙第3924号
学位授与の日付	平成16年 3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	破骨細胞の分化過程および炎症性骨破壊に関する研究
論文審査委員	教授 亀井 千晃 教授 山本 格 教授 川崎 博己

学位論文内容の要旨

本研究では、マウス造血系前駆細胞およびマクロファージ様細胞株を用いて破骨細胞の分化過程を *in vitro* で解析し、さらにラットアジュバント関節炎モデルを用いて炎症性骨破壊における破骨細胞の分化制御機構を *in vivo* で解析した。

骨髓細胞内に含まれる造血系前駆細胞は、M-CSF の作用および骨芽細胞との接触を介して破骨細胞前駆細胞 (osteoclast precursor (OCP)) に分化決定 (コミットメント) し、さらに破骨細胞前駆細胞は、M-CSF の作用および $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ などの骨吸収因子の作用を受けた骨芽細胞との接触を介して増殖を介さずに短期間内に破骨細胞に分化した。共存培養系で誘導される破骨細胞前駆細胞は、Mac-2 および Gr-1 表面抗原を共に発現し、生理的にも骨組織に接着して存在する細胞であった。

RANKL の抑制型可溶性受容体である osteoprotegerin は、共存培養系における破骨細胞前駆細胞形成過程および破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化過程を抑制した。共存培養に用いた骨芽細胞が RANKL の mRNA を恒常的に僅かに発現し、さらに M-CSF および RANKL により破骨細胞前駆細胞が誘導されたことから、破骨細胞前駆細胞形成過程には M-CSF および RANKL が必要であると考えられた。また、破骨細胞前駆細胞は、IL-1 α により延命されないこと、破骨細胞前駆細胞特異的に活性化される AP-1 の構成分子種が存在することから、破骨細胞前駆細胞が特殊な分化段階の細胞であると考えられた。

次に骨芽細胞が恒常的に産生し、RANKL と協調して破骨細胞の分化を促進する TGF- β の作用を解析した。TGF- β は、造血系前駆細胞から破骨細胞前駆細胞へのコミットメントを促進し、破骨細胞前駆細胞から TRAP 染色陽性の破骨細胞への分化過程に影響を与えなかった。また、TGF- β の細胞内シグナルである p38MAP キナーゼに対する阻害化合物は、TGF- β および RANKL による破骨細胞前駆細胞へのコミットメントを抑制せず、破骨細胞前駆細胞から TRAP 染色陽性の破骨細胞への分化過程を抑制した。また、p38 阻害化合物は、RANKL による TRAP プロモーターの活性化を抑制せず、TRAP 遺伝子の発現制御は、RANKL による破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化誘導過程とは異なる制御を受けているものと考えられた。

最後に、ラットアジュバント関節炎モデルに対する p38 阻害化合物の効果を解析した。p38 阻害化合物は、関節炎部位における RANKL および osteoprotegerin の mRNA 発現量の変化に影響を及ぼさずに、炎症の活動期における破骨細胞の過形成および滑膜組織への好中球浸潤を有意に抑制した。このように、p38 が、関節リウマチにおける炎症性骨破壊に対する新しい創薬ターゲット分子になることが期待された。

論文審査結果の要旨

本研究は、関節リウマチにおける炎症性骨破壊の発症メカニズムを明らかにする目的で、破骨細胞の分化過程を詳細に解析した。その結果、破骨細胞前駆細胞形成過程には M-CSF および RANKL の作用が必要であることを見出した。しかし、RANKL の作用のみで破骨細胞前駆細胞が誘導されることは困難であると考えられたので、破骨細胞前駆細胞の形成過程に対する TGF- β の作用を解析した。その結果、TGF- β は造血系前駆細胞から破骨細胞前駆細胞へのコミットメントを促進することが示された。TGF- β は p38 を活性化することにより生理作用を示すこと及び p38 阻害化合物が破骨細胞の分化過程を抑制することから、次に破骨細胞の分化過程における p38 の役割を解析した。その結果、p38 阻害化合物は TGF- β および RANKL による造血系前駆細胞から破骨細胞前駆細胞へのコミットメントの過程を抑制せず、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞へと分化する過程を抑制した。また、p38 阻害化合物はラットアジュバント関節炎モデルにおける炎症性の骨破壊に対して治療効果を示した。

以上、本研究は p38 が炎症性骨破壊を治療するための有効な創薬ターゲットとなる可能性を明らかにした点で大変有意義であり、博士（薬学）の学位に値すると判断した。