

## 論文審査の結果の要旨

氏名：高橋由美

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：RANKL は破骨細胞前駆細胞の IL-18 binding protein 発現を誘導する

審査委員：(主査) 教授 鈴木直人

(副査) 教授 川戸貴行

教授 今井健一

教授 前野正夫

炎症性骨吸収は、歯周炎、関節リウマチおよび変形性関節症などの炎症に伴う骨疾患の主症状であり、炎症下にある組織では、破骨細胞の分化と活性化に関与する様々なサイトカインが産生される。receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK) ligand (RANKL) は、破骨細胞の分化と成熟に必須なサイトカインであり、RANKL が破骨細胞前駆細胞膜の RANK に結合すると RANK/RANKL のシグナルが細胞内に伝達され、破骨細胞への分化が強く誘導される。また、tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin (IL)-1, IL-6 および IL-17 などの炎症性サイトカインは、滑膜線維芽細胞、T リンパ球および骨芽細胞の RANKL 発現を促進して、破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への分化を誘導する。一方、IL-6 および IL-17 が破骨細胞前駆細胞に直接作用すると、破骨細胞への分化が抑制されることが知られている。IL-18 もまた、破骨細胞分化に対して特異な作用を有するサイトカインである。骨芽細胞と脾臓細胞の共培養による破骨細胞分化誘導においては、IL-18 は T 細胞による granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) 発現を促進して破骨細胞分化を抑制する。一方、関節リウマチにおいては、IL-18 は組織破壊を促進し、関節リウマチ患部の滑膜に由来する T 細胞の RANKL 産生を増加させ、破骨細胞分化を誘導する。

IL-18 の標的細胞への刺激は、IL-18 receptor  $\alpha$  chain (IL-18R $\alpha$ ) と IL-18 receptor  $\beta$  chain (IL-18R $\beta$ ) で構成される IL-18 受容体を介して細胞内に伝達される。一方、IL-18 binding protein (IL-18BP) は、おとり受容体として IL-18 と IL-18 受容体との結合を阻害し、IL-18 の作用を抑制する。IL-18 と IL-18BP の均衡の破綻は、敗血症、クローン病および関節リウマチなどの疾患の発症にも関与する。これまでに、単球およびマクロファージが IL-18BP を産生することが明らかにされているが、炎症性骨吸収において認められる RANKL 誘導性の破骨細胞分化における破骨細胞前駆細胞と T 細胞との細胞間相互作用に対する IL-18BP の役割は検討されていない。著者は、RANKL 誘導性の破骨細胞分化過程においても、IL-18BP が IL-18 を介した破骨細胞前駆細胞と T 細胞との細胞間相互作用を抑制するのではないかと考えた。

そこで、本研究では、破骨細胞前駆細胞としてマウス単球/マクロファージ由来の RAW264.7 細胞を用いて、破骨細胞様細胞への分化、IL-18BP, IL-18, IL-18R $\alpha$  および IL-18R $\beta$  発現に及ぼす RANKL の影響を調べた。さらに、RANKL の刺激を受けた RAW264.7 細胞の培養上清を含む conditioned medium が、マウス脾臓由来の CD4<sup>+</sup> T 細胞の IL-18 誘導性 GM-CSF 発現に及ぼす影響についても検討した。

その結果、以下の結果および結論を得ている。

1. RANKL は、RAW264.7 細胞の TRAP 陽性の多核の破骨細胞様細胞への分化を促進させた。
2. RANKL は、RAW264.7 細胞の IL-18 遺伝子発現を有意に減少させる一方、IL-18BP 遺伝子発現を有意に増加させた。
3. RANKL は、RAW264.7 細胞の IL-18R $\beta$  遺伝子発現には影響を及ぼさず、IL-18R $\alpha$  遺伝子発現は RANKL の有無に関わらず検出されなかった。
4. RANKL は、RAW264.7 細胞の IL-18BP 発現を増加させた。
5. RANKL の刺激を受けた RAW264.7 細胞の培養上清を含む conditioned medium は、CD4<sup>+</sup> T 細胞の IL-18 誘導性 GM-CSF 発現増加を完全にブロックした。

以上の結果から、RANKL は、破骨細胞前駆細胞である RAW264.7 細胞の破骨細胞様細胞への分化

と IL-18BP 産生を促進して CD4<sup>+</sup> T 細胞の IL-18 誘導性 GM-CSF 発現増加をブロックし, IL-18 による破骨細胞分化抑制作用を減弱化させる可能性が示唆された。

以上のように, 本研究は歯周炎の主症状である炎症性骨吸収の過程で認められる RANKL 誘導性の破骨細胞分化における, 破骨細胞前駆細胞と T 細胞との細胞間相互作用に対する IL-18BP の役割を, 細胞および分子生物学的手法を用いて明らかにしたもので, 歯科臨床医学とくに骨代謝領域の研究発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は, 博士 (歯学) の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 30 年 3 月 7 日