

Ayon Haro, Esperanza Raquel 論文内容の要旨

主 論 文

Locally Administered Interferon- γ Accelerates Lipopolysaccharide-involved Osteoclastogenesis Independent of Immunohistological RANKL Upregulation

インターフェロン γ の局所投与は免疫組織学的な RANKL の発現増加と関係なく LPS による破骨細胞の形成を促進する

(Ayon Haro Esperanza Raquel, 鶴飼 孝、横山 美穂、岸本 隆明、吉永 泰周、原 宜興)

(Journal of Periodontal Research, in press)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：原 宜興 教授)

緒言

歯周炎は骨吸収を伴う慢性の炎症性疾患であり、LPS がその要因の一つと考えられている。歯周炎歯肉では腫瘍壊死因子 (TNF- α) , インターフェロン γ (IFN- γ) など多くのサイトカインの発現が確認されている。我々の教室でもヒト歯肉において重度の歯周炎歯肉で IFN- γ の発現が多いことを確認している。また *in vivo*において LPS によって誘発された骨吸収の増加と相関して IFN- γ の発現が変化することも示してきた。しかし、IFN- γ は *in vitro*において RANKL による破骨細胞形成を強力に抑制することが報告されている。現在、炎症性組織において IFN- γ がどのように骨吸収に影響しているのかは明らかになっていない。今回、LPS により引き起こされた炎症組織において、局所投与した IFN- γ が骨吸収に対してどのように作用するかを検討した。

対象と方法

マウス頭蓋骨に LPS を注入することにより起こる炎症性骨吸収モデルを用いて、*in vivo*での骨吸収に対する IFN- γ の影響を検討した。LPS と同時あるいは LPS 投与 2 日後に IFN- γ を同部に投与した。そして LPS 投与 5 日後にマウスを屠殺して頭蓋骨を摘出し、H. E. 染色と破骨細胞同定のために酒石酸耐性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い、骨吸収状態を病理組織学的に調べた。またこの時の骨周囲組織における RANKL の発現状態を免疫組織学的に調べた。さらに IFN- γ と同時に抗 TNF- α 抗体を投与することで骨吸収への TNF- α の関与を検討した。

次に *in vitro*においてマクロファージコロニー刺激因子と RANKL により、マウス

骨髄マクロファージから破骨細胞形成を誘導する系を用いて IFN- γ の破骨細胞形成への影響を調べた。骨髄マクロファージを RANKL と同時あるいは RANKL 刺激 48 時間後にさまざまな濃度の IFN- γ と LPS を添加し、RANKL 添加 72 時間後に TRAP 染色により破骨細胞の形成状態を評価した。また *in vivo* の実験同様に IFN- γ と同時に抗 TNF- α 抗体を投与することで骨吸収への TNF- α の関与を検討した。さらに RT-PCR ならびに ELISA により IFN- γ 添加後の TNF- α の産生を調べた。

結果

*In vivo*において LPS 注入と同時に IFN- γ を局所投与しても破骨細胞形成に影響を与えなかった。しかし、LPS 注入 48 時間後に IFN- γ を投与した場合には、骨吸収が促進された。骨吸収局所の RANKL の発現を免疫組織学的に調べたところ、IFN- γ を投与した LPS 注入 48 時間後には、LPS 注入前と比較して多くの RANKL の発現が確認された。しかし IFN- γ による骨吸収促進が見られた時の RANKL の発現は LPS のみを投与した場合よりも若干減少していた。また IFN- γ と同時に抗 TNF- α 抗体を局所投与すると、IFN- γ による骨吸収の促進は抑制された。

*In vitro*において、RANKL と同時に IFN- γ を添加すると過去の報告と同様に破骨細胞形成が抑制された。しかし RANKL 添加 48 時間後に IFN- γ を添加した場合の破骨細胞形成に対する抑制効果はわずかであった。この時に破骨細胞形成に影響を及ぼさない程度の低濃度の LPS と同時に IFN- γ を添加すると破骨細胞形成が促進された。この破骨細胞形成の促進は抗 TNF- α 抗体の添加により抑制された。そして IFN- γ 添加により TNF- α の mRNA が増加し、タンパクレベルでも有意な増加は認められなかったものの、TNF- α の増加傾向が確認された。

考察

この結果は、*in vivo* と *in vitro* ともに LPS 存在下での破骨細胞形成において、ある条件下では IFN- γ は破骨細胞形成を促進することを示している。*In vivo*におけるこの促進は、局所における RANKL 発現の増加によるものではなかった。*In vivo* と *in vitro* ともに抗 TNF- α 抗体投与により破骨細胞形成の促進が完全に抑えられたことより、この促進には TNF- α が重要な役割を果たしていると考えられた。これまでの報告で、TNF- α は強力に破骨細胞形成を促進することが報告されている。今回の結果では IFN- γ 添加により *in vitro* で TNF- α の mRNA が増加し、タンパクレベルでも有意な増加は認められなかったものの、TNF- α の増加傾向が確認された。IFN- γ は RANKL のレセプターの RANK や LPS レセプターの TLR4 の刺激を増強し、p38MAPK や AP-1 の活性化を増強することが知られており、このため TNF- α の産生刺激が増加したものと考えられる。

今回の結果より、炎症性組織など破骨細胞前駆細胞が RANKL で刺激を受けている状況においては、IFN- γ は TNF- α を介して骨吸収を促進する可能性が考えられる。

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。