

# 小原 悠 論文内容の要旨

主 論 文

IFN- $\gamma$  directly inhibits TNF- $\alpha$ -induced osteoclastogenesis *in vitro* and *in vivo* and induces apoptosis mediated by Fas/Fas ligand interactions

IFN- $\gamma$  の TNF- $\alpha$  誘導性破骨細胞形成に対する直接的抑制効果と  
Fas/FasL 相互作用によるアポトーシス誘導について

小原悠、北浦英樹、吉松昌子、藤村裕治、森田幸子、江口俊子、増山律子、吉田教明

(Immunology Letters / 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：吉田教明教授)

## 緒 言

T細胞の関わるサイトカインネットワークは炎症性の骨破壊において重要な役割を果たすことがわかっている。主要な炎症性サイトカインの1つである TNF- $\alpha$ は直接骨髄細胞に働き破骨細胞形成への分化誘導能を有することが報告された。また、炎症時に重要な働きを示す IFN- $\gamma$ は、急性リウマチ性関節炎、急性炎症や重度の歯周病において局所で発現していることが報告されている。このことから IFN- $\gamma$ の破骨細胞形成における影響およびメカニズムを解明することは、歯周病による病的骨吸収のみならず病的関節炎、リウマチなどの新しい治療薬、治療法への開発にもつながると考えている。そこで本研究ではこの炎症時に重要な働きをしている IFN- $\gamma$ に着目し、破骨細胞形成への影響の検討を行うこととした。

## 対象と方法

マウスの大腿骨より骨髄細胞を採取。同細胞を M-CSF 存在下で骨髄マクロファージに分化させ破骨細胞前駆細胞（以下 BMMs）として使用した。各細胞に対し、TNF- $\alpha$ 添加によって破骨細胞様細胞に分化する過程で IFN- $\gamma$ を作用させその影響の検討を行った。

## 結 果

BMMs に対して TNF- $\alpha$ を作用させると破骨細胞の形成が観察された。また、同時に IFN- $\gamma$ を加えると破骨細胞数が濃度依存性に減少した。同条件下にて RT-PCR より Nfatc1 の mRNA 発現量の減少が、また immunostaining により Nfatc1 の早期における核移行量の減少が認められた。

全骨髄細胞に対して TNF- $\alpha$ を作用させても同様に破骨細胞の形成が観察された。IFN- $\gamma$ を同時に加えると破骨細胞数が濃度依存性に減少した。この時、Heachest 染色により核の断片化が確認され、TUNEL 陽性細胞数が有意に増加した ( $p < 0.01$ )。Real time RT-PCR から付着細胞より TNF- $\alpha$  刺激で Fas mRNA の発現が、IFN- $\gamma$ で浮遊細胞において FasL mRNA の発現の上昇が確認された。また FACS によっても同様の結果が認められた。FasL 抗体をともに作用させると完全ではないが細胞生存率が上昇した ( $p < 0.01$ )。

マウスの頭頂部へ TNF- $\alpha$  を投与したところ組織学的に破骨細胞の形成が観察された。一方、同時に IFN- $\gamma$ を加えたところ有意に破骨細胞数が減少した ( $p < 0.01$ )。

## 考 察

この報告から、IFN- $\gamma$ は TNF- $\alpha$ 誘導性の破骨細胞形成に対し Nfatc1 の発現を減少させることで直接働くこと、Fas/FasL シグナルを介してアポトーシスを誘導することで間接的に抑制作用を示すことがわかった。また、この抑制作用は *in vivo* においても確認された。IFN- $\gamma$ は炎症の場における骨破壊に対し保護的な役割を担っている可能性が示唆された。