

氏名	翁 由紀子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第 442 号
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 19 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学位論文名	未熟樹状細胞から破骨細胞への分化におけるオステオポンチンの役割
論文審査委員	(委員長) 教授 安藤 康宏 (委員) 教授 草間 幹夫 准教授 中田 正範

論文内容の要旨

1 研究目的

ランゲルハンス細胞組織球症 (Langerhans cell histiocytosis: LCH) などの炎症性骨疾患における、未熟樹状細胞から破骨細胞への分化に対するオステオポンチン (Osteopontin: OPN) の役割を明らかにする。

2 研究方法

LCH 患者血清中 OPN 濃度を測定し、病勢と関係するかどうかを調べた。次に LCH 患者単球由来未熟樹状細胞を破骨細胞様多核巨細胞に分化させ、OPN 産生能や多核巨細胞分化効率を調べた。健康成人単球を用いて、OPN 阻害実験を行った。OPN 発現を siRNA で抑制すると多核巨細胞分化が阻害されるか、さらに全長型 OPN、切断型 OPN が受容体に結合するのを阻害するペプチドを使って、全長型、切断型のどちらが多核巨細胞分化に重要かを調べた。

3 研究成果

LCH 患者血清中 OPN 濃度は、予後不良の多臓器型が有意に高値であった。LCH 患者単球由来未熟樹状細胞を多核巨細胞に分化させたが、OPN 産生能や多核巨細胞分化能の亢進はなかった。健康成人単球由来未熟樹状細胞から多核巨細胞分化過程で、OPN 発現を抑制すると多核巨細胞分化は阻害された。ペプチド添加実験では、切断型 OPN が多核巨細胞分化に重要であることがわかった。

4 考察

多臓器型 LCH では、血清 OPN が高値であった。LCH 細胞由来 OPN が免疫細胞を病変に遊走させ、それらの細胞を刺激し、炎症性サイトカインが産生され、サイトカインストームが起こることが推測される。患者細胞の培養では、OPN、破骨細胞分化について、有意な結果は得られなかった。単純な培養系であり、LCH の環境を再現できていないことが原因と考える。健康成人単球由来未熟樹状細胞を用いた実験では、特に切断型 OPN が破骨細胞様多核巨細胞分化に重要であることがわかった。切断型 OPN は、全長型 OPN よりも炎症作用が強く、関節リウマチでは症状を悪化させることが報告されている。LCH でも関与しているかどうかを検討する

ことが今後の課題である。

5 結論

LCHにおいて、血清中 OPN 濃度は病勢と相関した。健康成人単球を用いた実験では、破骨細胞様多核巨細胞分化には、切断型 OPN が重要であった。

論文審査の結果の要旨

本研究は稀だが原因不明且つ予後不良のランゲルハンス細胞組織球症 (LCH) の病態解明にあたり、LCH の破骨性病変の形成に、オステオポンチン(OPN)産生亢進と、それに伴う未熟樹状細胞(iDC)から破骨細胞様多核巨細胞(OC-like MGC)への分化促進がかかわっている可能性について検討している

研究は、(1) 小児患者検体、(2) 健常成人単球の2つの系から構成され、(1) では血中 OPN 濃度が LCH の重症度と相関する一方、患者単球(MC)由来の iDC は OC-like MGC への分化能や OPN 産生能において非 LCH 小児患者 MC と異なることが示され、採取困難な LCH 細胞の代わりに患者 MC を用いる実験系の限界を示した。

(2) では、① 健常成人 MC においても、iDC, OC-like MGC への分化過程で、酸化ストレス亢進に依らない全長型および切断型 OPN の産生増加と共に、全長型 OPN の細胞表面受容体 $\alpha v \beta 3$ は OC-like MGC に発現する一方、切断型 OPN の細胞表面受容体 $\alpha 9 \beta 1$ の発現は OC-like MGC ではなく iDC の段階でのみ特異的に増加すること、② OC-like MGC 形成は、MC から iDC までの分化段階での OPN 産生を抑制するとアポトーシスを亢進する事なく抑制されるが、iDC から OC-like MGC までの段階で OPN 産生を阻害しても影響されないこと、③ にもかかわらず、iDC 以降の段階でも切断型 OPN と $\alpha 9 \beta 1$ との結合を阻害すると OC-like MGC 形成が抑制される事、を示した。

提示された実験結果のなかで、(2) -②と③は、iDC の段階で特異的に発現する細胞表面インテグリン $\alpha 9 \beta 1$ とそのリガンドである切断型 OPN の結合が、OC-like MGC 形成に関与している事を示した点で興味深い。ただしどの分化段階での $\alpha 9 \beta 1$ 、切断型 OPN が OC-like MGC 形成に重要なのかという点については、これら2つの実験結果には矛盾があり、合理的な解釈は提示されていない。

その他、不備として論文中の図の表記や解説が不十分あるいは不統一で分かりにくい点、また考察中の論述について根拠となる引用文献の提示が不十分である点が挙げられ、これらは修正を要する。

しかしながら全体としては、OPN と破骨性病変の関連について着目した本研究の新規性と意義は高く、LCH 病態解明に資すると思われる論文である。

最終試験の結果の要旨

申請者は試問において、この実験系の限界をふまえた上で妥当な結論を導いており、質疑応答においても LCH の臨床、および OPN と骨代謝に関する最近の知見について十分な知識を有し、今回の研究テーマを今後さらに継続発展させてゆく能力を有すると評価した。

以上の論文審査と最終試験結果より、本論文の申請者は、学位授与に値すると全員一致で判断した。