

平成30年 2月

# 舟木佳弘 学位論文審査要旨

主 査 萩 野 浩  
副主査 松 浦 達 也  
同 清 水 英 治

## 主論文

Resolvin E1 inhibits osteoclastogenesis and bone resorption by suppressing IL-17-induced RANKL expression in osteoblasts and RANKL-induced osteoclast differentiation

(Resolvin E1は骨芽細胞におけるIL-17誘導性RANKL発現とRANKL誘導性破骨細胞分化を抑制することで破骨細胞形成および骨吸収を抑制する)

(著者：舟木佳弘、長谷川泰之、岡崎亮太、山崎章、末田悠里子、山本章裕、矢内正晶、福嶋健人、原田智也、牧野晴彦、清水英治)

平成30年 Yonago Acta Medica 掲載予定

## 参考論文

1. Leukocytapheresis for the treatment of acute exacerbation of idiopathic interstitial pneumonias: a pilot study

(特発性間質性肺炎の急性増悪の治療のための白血球除去療法：パイロット研究)

(著者：山本章裕、橋本潔、山崎章、高田美樹、森田正人、舟木佳弘、岡田健作、照屋靖彦、福嶋健人、清水英治)

平成29年 The Journal of Medical Investigation 64巻 110頁～116頁

# 学 位 論 文 要 旨

Resolvin E1 inhibits osteoclastogenesis and bone resorption by suppressing IL-17-induced RANKL expression in osteoblasts and RANKL-induced osteoclast differentiation

(Resolvin E1は骨芽細胞におけるIL-17誘導性RANKL発現とRANKL誘導性破骨細胞分化を抑制することで破骨細胞形成および骨吸収を抑制する)

関節リウマチ(RA)は、進行性の滑膜炎や骨破壊を特徴とする慢性炎症性疾患である。RAにおける骨破壊は骨吸収能を有する生体唯一の細胞である破骨細胞が重要な役割を担っており、その分化に必須のサイトカインとしてRANKLが同定され、治療ターゲットとして注目されている。RANKLは骨芽細胞において発現し、破骨細胞前駆細胞において発現しているその受容体であるRANKに結合することにより、破骨細胞分化が誘導されることが知られている。加えて、RAにおける骨破壊の分子メカニズムの一つとして、活性化したTh17細胞から過剰産生されるIL-17が骨芽細胞に作用し、PGE<sub>2</sub>産生やRANKLの発現を誘導し、破骨細胞を活性化させることも知られている。

近年、 $\omega$ -3系不飽和脂肪酸であるeicosapentaenoic acid(EPA)、docosahexaenoic acid(DHA)由来の代謝産物が生体内の炎症部位において、強い炎症収束機能を持つことが明らかになった。Resolvin E1(RvE1)はEPAに由来する代謝産物の一つで、様々な炎症性疾患への効果が期待されている抗炎症性脂質メディエーターである。これまでの報告で、RvE1のマウス歯周炎モデルにおける骨吸収抑制効果やシェーグレン症候群のドライアイに対する抗炎症効果が示されており、RAにおいても、その有用性が期待されている。

そこで今回の研究では、RANKLにより誘導される破骨細胞形成と骨吸収および骨芽細胞においてIL-17により誘導されるRANKL発現がRvE1により抑制されるか否かについて検討した。

## 方 法

マウス単球性白血病由来細胞株であるRAW264.7細胞を破骨細胞前駆細胞として、マウス頭蓋冠由来細胞株であるMC3T3-E1細胞を骨芽細胞として用いた。いずれの実験もRAW264.7細胞およびMC3T3-E1細胞を培養プレートに播種し、RvE1添加1時間後にそれぞれRANKLもしくはIL-17で刺激を行った。RAW264.7細胞をRANKLで刺激し、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)染色を行い、TRAP染色陽性で多核の破骨細胞様細胞へ分化した数を測定し、破

骨細胞分化を評価した。続いて、骨吸収キットを用いて、骨吸収活性について検討した。同様に、破骨細胞形成に必須の転写因子であるNFATc1やc-fos、破骨細胞分化を制御するMMP-9、cathepsin Kの遺伝子発現をリアルタイムPCR法にて測定した。続いてRANKLで誘導されるNFATc1の細胞内分布を蛍光免疫染色にて観察した。MC3T3-E1細胞において、IL-17で誘導されるCOX-2、mPGES-1、RANKLの遺伝子発現をリアルタイムPCR法で測定し、培養上清中のPGE<sub>2</sub>値をELISA法にて検討した。

## 結 果

RAW264.7細胞において、RANKLにより破骨細胞分化と骨吸収活性、NFATc1、c-fos、MMP-9、cathepsin Kの遺伝子発現が誘導され、NFATc1の細胞質から核内への移行は促進され、RvE1はこれらを抑制した。MC3T3-E1細胞において、IL-17刺激により、PGE<sub>2</sub>値は上昇し、COX-2、mPGES-1、RANKLの遺伝子発現は促進された。RvE1はこれらを抑制した。

## 考 察

本研究では、RvE1がNFATc1の細胞質から核への移行を抑制することによって、RANKLにより誘導されたcathepsin KやMMP-9といった破骨細胞分化を促す遺伝子の発現を抑制し、この結果として骨吸収を抑制する可能性を示した。さらにRvE1は、骨芽細胞において、IL-17により誘導されるRANKLの遺伝子発現を抑制することが確認された。その機序として、RvE1が、COX-2、mPGES-1の遺伝子発現を抑制し、PGE<sub>2</sub>産生を抑制する可能性が示された。これらの結果は、RvE1が骨芽細胞と破骨細胞の両方に作用し、RAにおける骨破壊を抑制することを示唆しており、RA治療の新たなターゲットとして期待される。

RvE1の臨床試験はドライアイ患者においてPhase II 試験があるのみで、その他は動物実験レベルに限定される。実臨床で投与されているEPAと比較して抗炎症効果が高いと期待されているRvE1についてさらなる基礎研究を行うことは重要と考える。

## 結 論

本研究では、RvE1がRANKLにより誘導される破骨細胞分化を抑制することで破骨細胞形成と骨吸収を抑制する効果を示した。今回の新しい知見は、破骨細胞におけるNFATc1とc-fosの抑制と骨芽細胞におけるPGE<sub>2</sub>を介したIL-17により誘導されるRANKL発現の抑制という機序により、RvE1がRAの治療薬となる可能性を示唆するものである。