

審査の結果の要旨

氏名 岡田 寛之

本研究は、破骨細胞の分化過程で起こる現象として古くから知られている細胞内カルシウム振動 (Ca oscillations) を主な対象とした。Ca oscillations の上流にある ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) 受容体の役割について、ノックアウトマウスを用いて詳細に検討した。また、関節リウマチ治療薬 CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4) -Ig による破骨細胞形成抑制の新たな機序を明らかにした。さらに破骨細胞と同一起源の骨髄由来巨細胞である異物巨細胞 (foreign body giant cell, FBGC) の分化においても、Ca oscillations の変動が起こることを見出した。本研究は、3つのテーマに分け議論を進め、下記の結果を得ている。

1. 破骨細胞分化における ITAM 下流 Ca oscillations 解析

破骨細胞分化初期の Ca oscillations を計測した上で、新たに確立した周波数解析法を用いた分析を行い、破骨細胞分化における ITAM の役割を明らかにした。ITAM 受容体は破骨細胞分化に必要な共刺激の細胞内への入力ゲートであり、ITAM がないと Ca oscillations が起こらないと考えられてきた。しかし本研究では、破骨細胞分化に影響がない Fc receptor γ (FcR γ) KO マウスの骨髄マクロファージにおいて、むしろ Ca oscillations の振幅が減少した。他方、DAP12 KO マウスや ITAMs DKO マウスでは、粗雑な Ca oscillations が起こることを明らかにした。また破骨細胞分化誘導因子である RANKL が、2種の ITAM を介し、特定の周波域のコントロールを巧みに行っていることを明らかにした。

本研究の結果、破骨細胞分化において生じる Ca oscillations の周波数が、2種の ITAM 分子により、巧みに制御されていることが分かった。今後、各種イオンチャネル、受容体を含む、破骨細胞分化メカニズム解明の一步となり、さらには、破骨細胞分化を抑制する新たな治療標的が発見される可能性がある。

2. CTLA4-Ig (アバタセプト) が破骨細胞形成を直接抑制する機序

関節リウマチ治療薬である CTLA4-Ig が、破骨細胞分化を直接抑制することはこれまでに報告されていたが、分化抑制作用を説明する新たな機序を明らかにした。すなわち CTLA4-Ig は、FcR γ を介して骨髄マクロファージの Ca oscillations に干渉し、nuclear factor of activated T-cell 1 (NFATc1) 発現を抑制し、破骨細胞分化を抑制することを示した。

本テーマでは、薬剤投与中による Ca oscillations に与える影響を検出する新たな

手法を考案した。時間軸に沿って周波数を解析するウェーブレット解析の手法を応用し、CTLA4-Ig 投与により Ca oscillations が急性の変化をきたすことを示した。

3. FBGC 分化条件の検討、FBGC 分化における Ca oscillations

従来の *in vitro* FBGC 分化誘導法を改良し、FBGC を高効率に誘導する条件を見出し、FBGC 分化の判定が容易になった。FBGC 分化には破骨細胞と異なり、2 種の ITAM のうち Fc R γ が重要であることを明らかにした。

本研究では、FBGC 分化においても Ca oscillations が分化誘導因子によって変動することを明らかにした。FBGC 分化誘導因子である IL-4 処理を骨髄マクロファージに行うと、Ca oscillations が高周波にシフトすることを明らかにした。また、FcR γ ノックアウトマウス由来細胞を用いた FBGC 分化誘導条件の解析結果から、FcR γ に IL-4 による過度な振幅減弱を緩和する効果があることが明らかになった。

FBGC は破骨細胞と共通した分子メカニズムを持つ一方、ITAM の Ca oscillations や分化に対する役割に違いがあった。今後、生体異物反応における FBGC の分化メカニズム、および異物反応における役割の理解が進むものと期待される。

以上、本論文は、骨髄細胞由来の巨細胞分化過程において、破骨細胞同様に異物巨細胞においても、2 種の ITAM 下流で Ca oscillations の周波数が巧みに制御されていることを明らかにした。Ca oscillations の新たな解析手法を用いることで、従来の研究では検出困難だった骨髄マクロファージの Ca oscillations 変動を明らかにすることに成功した。今後、細胞膜や小胞体の Ca チャネルの検討を進めることで、Ca oscillations の調律メカニズム解明につながる成果と考えられる。さらに他の非興奮性細胞における oscillations 解析にも新たな手法は応用可能であり、細胞生理学における Ca oscillations の理解が進む可能性がある。よって本論文は博士(医学)の学位の授与に値するものと考えられる。