

B31 SOCS1 は炎症性骨破壊時の IFN γ シグナルを抑制し破骨細胞分化を促進する

○大石正信^{1,2}, 久木田敏夫³, 岩本幸英², 吉村昭彦¹
 (九州大学医学部生体防御医学研究所免疫制御学部門¹, 九州大学医学部整形外科教室², 九州大学歯学研究院口腔常態制御学講座口腔細胞分子生物学分野³)

【目的】 IFN γ と β はそれぞれ炎症性骨破壊時および生理的な骨吸収での破骨細胞分化を制御していることが知られている。IFN のシグナル抑制分子である SOCS1 の破骨細胞分化における役割を解析することを目的として本研究を行った。

【方法】 IFN γ -/-マウス、SOCS1-/-IFN γ -/-マウス (以下 dKO マウス) 由来の骨髄マクロファージを M-CSF と RANKL で破骨細胞へと分化させた。その際 IFN γ を投与し分化抑制効果を比較した。更に WT 由来の骨髄マクロファージにレトロウイルスベクターを用いて SOCS1 を強発現させ破骨細胞分化過程での IFN 感受性を調べた。また各マウスの骨組織の比較し更に SOCS1+/+マウスと SOCS1+/-マウスで LPS 頭蓋注を行い骨破壊度を比較した。【結果】 SOCS1 の欠損マウスはコントロールと比較しても組織標本上破骨細胞数に差を認めなかった。dKO 由来の骨髄マクロファージは IFN γ -/-とほぼ同様の分化傾向を示したが IFN γ に対する感受性が亢進しており IFN γ -/-マウス由来と比べても低濃度の IFN γ で分化抑制を認めた。SOCS1 を強発現させた骨髄マクロファージはコントロールと比べ IFN γ に抵抗性を示した。SOCS1+/-マウスの LPS による骨破壊の程度は SOCS1+/+と比べ軽度であった。【考察】 ホメオスタシスレベルでの破骨細胞分化においては SOCS1 の発現量は重要ではないと思われた。一方で炎症性骨破壊時に未熟な単球、マクロファージが破骨細胞系譜に分化していく際、IFN γ の存在下でもその分化抑制を免れるのに SOCS1 を発現することが重要であると思われた。

SOCS1 enhances osteoclastogenesis by negatively regulating IFN γ signaling during inflammatory bone destruction

Ohishi Masanobu^{1,2}, Kukita Toshio³, Iwamoto Yukihide², Yoshimura Akihiko¹

(¹Molecular and Cellular Immunology, Institute of Bioregulation, Faculty of Medicine Kyushu University, ²Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, Kyushu University, ³Oral Cellular and Molecular Biology, Division of Oral Biological Sciences, Faculty of Dental Science, Kyushu University)

B32 ウマ腱細胞におけるサイトカインに対するインテグリン発現変化の解析

○宇田真弓¹, 榎本有紀子¹, 笠島快周², 桑野隆敏², 新井克彦³, 宮本泰則¹
 (お茶の水女子大学・理・生物¹, JRA総研・臨床医学², 東京農工大・硬蛋白研³)

【目的】 ウマ屈腱炎は代表的な競走馬の炎症性疾患であり、発症機構の解析及び初期診断の確立が求められている。腱組織の主要成分であるコラーゲンなど細胞外マトリックスのレセプターであるインテグリンを診断マーカーとして着目し、微量の病理検体から解析可能な系の構築を目指している。現在、ウマ腱細胞に対しサイトカインの刺激によるインテグリンの変化を感度が良く定量性もあるリアルタイム PCR 法による解析系の構築及びサイトカインのインテグリン発現への影響を解析している。【対象ならびに方法】 1) 対象 ウマ浅指屈腱の腱組織由来腱細胞を対象に本研究を進めている。2) 方法 腱細胞におけるインテグリン量をリアルタイム PCR 法により解析するために、ウマインテグリン遺伝子増幅用の PCR 用プライマーの設計を行った。サイトカイン処理後のウマ腱細胞から調製した RNA から cDNA を鋳型に、各々のインテグリン発現量をリアルタイム PCR 法により解析した。【結果】 まず、コラーゲンのレセプターであるインテグリン $\alpha 1 \beta 1$ や炎症に関与するといわれるインテグリン $\alpha v \beta 3$ について、ウマ腱細胞由来の RNA から、ウマインテグリン遺伝子断片のクローニングを行った。それらの断片の塩基配列は、ヒトのインテグリン αv , $\alpha 1$, $\beta 1$, $\beta 3$ の配列と比較して 91~94% の高い相同性が見られ、確かにウマのインテグリン αv , $\alpha 1$, $\beta 1$, $\beta 3$ であることが明らかになった。この断片増幅に用いたプライマーを利用し、サイトカイン添加したウマ腱細胞のインテグリン発現量をリアルタイム PCR 法により調べたところ、FGF-5 と TGF- β ファミリー分子において $\alpha 1$ や αv 分子の発現増大傾向が観察された。

【結論】 微量のウマ検体からインテグリン $\alpha 1$, αv , $\beta 1$ の発現量を解析する系を構築でき、腱細胞におけるサイトカインによるインテグリン発現変化を観察した。

Analysis of integrin expression changed by cytokine in cultured equine tenocytes

Mayumi Uda¹, Yukie Enomoto¹, Yoshinori Kasashima², Atsutoshi Kuwano², Katsuhiko Arai³, and Yasunori Miyamoto¹

(¹Department of Biology, Ochanomizu University, ²Clinical Science and Pathobiology Division, Equine Research Institute, Japan Racing Association, ³Department of Tissue Physiology, Tokyo University of Agriculture and Technology)