

論 文 要 旨

氏 名	高倉 那奈
タイトル (日英併記)	A novel inhibitor of NF-κB-inducing kinase prevents bone loss by inhibiting osteoclastic bone resorption in ovariectomized mice (新規 NF-κB-inducing kinase 阻害剤は卵巣摘出マウスの破骨細胞による骨吸収を阻害し骨喪失を防ぐ)
<p data-bbox="197 510 596 544">論文の要旨 (日本語で記載)</p> <p data-bbox="161 589 1445 1014">骨粗鬆症や関節リウマチなどの疾患では、破骨細胞形成が亢進し骨吸収がおこる。骨吸収は破骨細胞の数の増加や過剰な活性化によって引き起こされる。炎症反応や免疫応答において主要な役割を果たす転写因子 NF-κB は、免疫応答中の遺伝子発現のみならず、破骨細胞分化誘導因子 (Receptor Activator of NF-κB Ligand:RANKL) による破骨細胞形成を調節する。NF-κB には IκBα の分解を伴う古典的経路と NF-κB inducing kinase (NIK) の活性化による非古典的経路の2つの活性化経路が存在し、RANKL はこの2つの経路両方を活性化する。我々は、NIK に点変異を有し p100 から p52 のプロセシングが起きない、機能欠失型点変異を有する免疫不全マウス <i>alymphoplasia (aly/aly)</i> マウスが、破骨細胞数の有意な減少を伴う軽度の大理石骨病を呈することを報告した。この骨量の増加は破骨細胞数の減少に起因することから、NIK の機能を阻害することで骨吸収を抑制することを考えた。我々は、代謝性骨疾患を改善する薬物標的として、非古典的 NF-κB 経路の活性化に重要な NIK に着目し、NIK の選択的阻害剤である Compound33 (Cpd33) (Genentec,inc.) の破骨細胞形成に対する抑制効果について検討した。なお、本研究は九州大学動物実験委員会の承認を得て行った (A30-217-0)。</p> <p data-bbox="161 1059 1445 1597">まず、<i>in vitro</i> にて Cpd33 の破骨細胞に対する効果を確認するため、初代細胞培養および共培養を行った。5-6 週令の雄性 C57BL/6J マウスの脛骨と大腿骨より骨髄細胞を調製し Cpd33 で前処理した後、M-CSF および RANKL 存在下で培養して破骨細胞を誘導した。培養7日目に、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い、TRAP 陽性多核細胞を破骨細胞として計測した。また、カテプシン K や DC-STAMP などの破骨細胞分化マーカーの発現量の変化を Real-time PCR 法で確認した。骨髄細胞を M-CSF 存在下で培養し、破骨細胞前駆細胞を誘導した後に、Cpd33 で前処理した後、RANKL で刺激し経時的にタンパク質を回収した。Cpd33 による古典的および非古典的経路の活性化は、それぞれ IκBα 分解と p100 の限定分解をウエスタンブロッティング法で評価した。さらに、NFATc1 発現量の変化もウエスタンブロッティング法にて評価した。コラーゲンをコートした培養プレート上でマウス初代骨芽細胞と骨髄細胞を 1α,25(OH)$_2$D$_3$ およびプロスタグランジン E2 存在下で共存培養し、破骨細胞を誘導した後にコラーゲナーゼ処理を行い、成熟破骨細胞画分を調製した。この成熟破骨細胞画分を象牙片上に播種し、Cpd33 存在下、または非存在下で培養し、形成された吸収窩面積を測定した。Cpd33 は細胞増殖に影響を与えずに、濃度依存的に破骨細胞形成と分化マーカーの発現を抑制した。また、Cpd33 は RANKL 刺激による IκBα の分解には影響せず、p100 の限定分解を抑制した。さらに、成熟破骨細胞に Cpd33 を添加すると、破骨細胞数に影響せずに象牙切片上の吸収窩形成を抑制した。</p> <p data-bbox="161 1641 1445 1731"><i>in vivo</i> で Cpd33 の骨吸収抑制効果を検討するため、閉経後骨粗鬆症モデルである卵巣摘出マウスモデルを用いて検討した。卵巣摘出をすると高回転型の骨粗鬆症が起こる。Cpd33 を投与すると卵巣摘出マウスにおいて骨形成に影響することなく、破骨細胞数の増加を抑制し、海綿骨量の減少を抑制した。</p> <p data-bbox="161 1776 1445 1910">Cpd33 は、RANKL 刺激による非古典的 NF-κB 経路を選択的に阻害し、細胞生存に影響を与えることなく、破骨細胞形成を用量依存的に阻害する。また、Cpd33 を閉経性骨粗鬆症モデルマウスに投与すると、骨芽細胞による骨形成には影響を与えず、破骨細胞数を抑制し、骨量減少を防ぐ。以上の結果より、NIK の選択的阻害剤は、代謝性骨疾患の新しい治療薬になる可能性がある。</p>	