論 文 内 容 要 旨

氏 名 石田 匡彦

歯周病等による病的骨吸収の誘導は、細菌の菌体成分のLipopolysaccharide(LPS)が原因の１つであることが知られている。また、細菌のペプチドグリカンの免疫生物活性を担う最小構成成分であるmuramyl dipeptide(MDP)がLPSによる免疫賦活化作用を増加させることが報告されている。このことから本報告では、LPSによって引き起こされる破骨細胞形成および骨吸収に対するMDPの作用を検討した。

マウスの頭蓋部にLPSおよびMDPをそれぞれの濃度を変えて注入し、組織切片を作製後、TRAP染色を行い破骨細胞形成を評価した。その結果、高濃度LPSを投与したマウスでは破骨細胞の形成が多く認められたが、低濃度LPSでは破骨細胞形成が少なかった。しかし、低濃度LPSにMDPを同時に投与したものでは多くの破骨細胞形成が認められた。また、破骨細胞マーカーであるTRAPおよびcathepsin K、また、RANKLの発現のリアルタイムPCRでの評価でも同様の結果が得られた。さらに骨吸収マーカーである血中のTRACP 5b濃度およびマイクロCTを用いた骨吸収の評価でも同様にLPSにMDPを加えたものでは骨吸収の増強が認められた。

次に、マウス骨髄細胞からストローマ細胞を作製し、LPSによるRANKLの発現に対するMDPの作用を検討した。ストローマ細胞において、低濃度LPSではRANKLの発現が認められなかったが、高濃度LPSおよび低濃度LPSに同時にMDPを加えたものではRANKLの発現が多く認められた。このことからMDPはストローマ細胞に対して*in vivo*と同様にLPSの作用を増強させることが分かった。しかしながら、MDPの増強作用は、副甲状腺ホルモン(parathyroid hormone:PTH)による破骨細胞形成に対しては認められなかった。

次に*in vivo*においてLPSの受容体であるTLR4の発現について検討したところ、MDPはLPSが誘導するTLR4の発現を増加させることが認められた。同様に、ストローマ細胞に対するLPSのTLR4発現誘導に対してもMDPによる増加作用が認められた。

ストローマ細胞においてLPSを作用させるとMAPkinase(MAPK)であるERK、p38およびJNKのリン酸化が誘導された。さらに、MDPはLPSによって誘導されるこれらのリン酸化の全てを増加させた。しかしながら、MDP単独では、ERK、p38およびJNKのリン酸化は増加しなかった。これらの結果からMDPは、MAPKのリン酸化は誘導しないが、LPSによるMAPKのリン酸化を増強させることがわかった。

これらの結果より生体内では、感染によって起こる病的な骨吸収は、MDPがLPSで誘導される破骨細胞形成およびそれによる骨吸収を増加させている可能性が示唆された。