

京都大学教育研究振興財団助成事業
成果報告書

平成28年10月12日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 申請時 / 医学研究科整形外科学

職名・学年 申請時 / 博士課程4年

氏名 村田 浩一

助成の種類	平成24年度・在外研究長期助成		
研究課題名	炎症環境下破骨細胞分化における、Bcl6のエピジェネティック制御機構の解明		
受入機関	Hospital for special surgery アメリカ合衆国・ニューヨーク		
渡航期間	平成25年6月1日～平成28年9月19日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会計報告	交付を受けた助成金額	2,500,000円	
	使用した助成金額	2,500,000円	
	返納すべき助成金額	円	
	助成金の使途内訳	米国Visa申請費用(含SEVIS) 60,000円	
		渡航時航空運賃(片道) 360,000円	
		宿泊費(ニューヨーク到着 10泊) 80,000円	
宿泊費(アパート賃料 8月分) 2,000,000円			
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 今回の助成には非常に助けられました。改めて感謝申し上げます。		

平成 24 年度在外研究長期助成の援助を受け、平成 25 年 6 月 1 日よりアメリカ合衆国ニューヨーク州ニューヨーク市にある Hospital for Special Surgery に付属する研究室に留学し、平成 28 年 9 月 19 日に研究を終了した。研究助成を受けた約 3 年間の成果の概要を報告する。

Hospital for Special Surgery は整形外科、リウマチ科を専門とする病院で、Weill Cornell Medical College と Rockefeller University と提携しており、U.S. News and World Report の 2016 年版 America's Best Hospitals にて整形外科で全米 1 位、リウマチ科で全米 2 位にランクされている。整形外科分野では、人工膝関節を始めとした数々の分野で分野をリードする業績をあげている。Hospital for Special Surgery は基礎研究部門も併設しており、私の所属するラボの Principal Investigator は Lionel B. Ivashkiv 先生で、リウマチ学の MD であり、マクロファージや破骨細胞の分化制御を専門としている。基礎研究目的での留学であり、実際の臨床現場に行くことは禁じられていたが、私のバックグラウンドである整形外科医としては非常に刺激的な環境であった。また施設は骨・免疫関係のその分野をリードする研究者で占められており、研究設備は無論、研究の各論的な議論に関しては非常に恵まれた環境であった。研究課題として「関節リウマチを始めとする炎症下での破骨細胞分化制御」について次の事を明らかにした。

破骨細胞は 5 個から 20 個（あるいはそれ以上）の核をもつ多核巨細胞で、骨吸収の役割を果たす。破骨細胞は骨髄由来の単球マクロファージ系の前駆細胞が分化・融合して形成され、M-CSF と RANKL 2 つのサイトカインが分化に重要な役割を果たす。また RANKL による分化の過程はよく研究されており、RANKL は NF- κ B, MAPK やカルシウムシグナリングなどの pathway を介して、破骨細胞特異的な遺伝子の発現を誘導する転写因子 NFATc1 を活性化させる。また近年、IRF8、BCL6 といった破骨細胞分化を負の方向へ制御する因子が存在し、過剰な破骨細胞分化が抑制される仕組みがあることも報告されてきた。酸素濃度も破骨細胞分化に重要な因子で、通常大気下で 20%の酸素濃度のところが組織では 2.5-9%、炎症組織、骨折などに至っては 1%以下になりうるということが報告されている。そして、低酸素下では破骨細胞分化は促進されていることが報告されている。HIF 転写因子は低酸素下への細胞の適応において重要な役割を果たすことが示されており、低酸素下での破骨細胞分化においても重要な役割を果たすと考えられているが、低酸素下で破骨細胞分化が促進される理由は未だ解明されていない。リウマチ滑膜炎は増殖する滑膜細胞と循環血液由来の炎症細胞により低酸素状態であり、低酸素下での破骨細胞分化促進の機序を解明することはリウマチ骨破壊に対する新たな治療につながると考えられる。

今回ヒト単核球を用いた Genome-wide なスクリーニングと bioinformatics を組み合わせることで、COMMD1 が低酸素下で破骨細胞分化促進を負の方向に制御していることが予想された。ヒト単核球でこの遺伝子を抑制することで、この遺伝子は破骨細胞分化を負に制御することを確認した。日本人リウマチ患者を使用したコーホートにおいても、この遺伝子の発現が高いグループと低いグループがいることがわかり、高いグループでは上肢の関節破壊が抑制的になることがわかった。骨髄細胞特異的にこの遺伝子を欠損させたマウスに K/BXN マウス血清を投与して関節炎を誘導すると、有意に骨破壊が増強した。マウス頭蓋冠に TNF で骨破壊を誘発

しても同様に、欠損マウスで骨破壊が増強した。

この遺伝子は破骨細胞分化において mRNA レベルでは変化せず、タンパク質レベルで発現が制御されていることが分かった。通常の RANKL 刺激下にタンパク質レベルで発現が誘導され、破骨細胞分化に対して抑制的にはたらくとともに、低酸素下ではこの遺伝子のタンパク質発現が抑制されており、このことが低酸素下での破骨細胞分化促進につながっていることが判明した。

またこの遺伝子の抑制がどのように破骨細胞分化に寄与するか、Genome-wide に調べたところ、RANKL 誘導下において低酸素関連遺伝子の発現はこの遺伝子の抑制と低酸素下での発現が同様の発現パターンをとり、既知の破骨細胞分化に関わる pathway を促進しているとともに、新たな pathway が存在し、亢進されていることが判明した。この pathway はマウスではこれまで報告がなく、ヒト破骨細胞前駆細胞では機能していないと考えられていたが、実際には分化に際し細胞代謝に関与し、破骨細胞分化におけるエネルギー供給に重要な役割を果たしていることが分かった。

以上のように、ヒト由来の末梢血単核球を使うことで、破骨細胞分化における重要な因子が同定され、その発現の多寡がリウマチ関節破壊の予後予測に使用できることが示唆された。

現在本研究内容については論文投稿中である。

また以上の研究内容に関して、2016 年米国骨代謝学会において Young Investigator's Award を受賞した。

末筆ではあるが、京都大学教育研究振興財団からの貴重な助成により、日本国内では得られない環境と経験を得ることが出来たことに心からの謝意を表したい。

平成 28 年 10 月 12 日

村田 浩一