

## 学位論文の内容の要約

氏名	小田 俊男
学位の種類	博士 (生命科学)
学府又は研究科・専攻	生物システム応用科学府 共同先進健康科学専攻
指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	TLR2 ヘテロシグナルによる骨吸収の制御に関する研究

## 【論文の内容の要約】

多くの高齢者が罹患する変形性関節症や歯周病などの骨疾患は、生活の質にかかわる重大な疾患の一つである。これらの疾患は炎症を伴う骨吸収疾患である。この炎症には、哺乳類が自然免疫機構として備えている侵入微生物をパターンで認識するパターン認識受容体群 (Pattern Recognition Receptors, PRRs) が関与することが近年明らかとなった。当研究室では、これまでグラム陰性細菌の細胞壁表層に存在する LPS の受容体である Toll like receptor 4 (TLR4) が骨吸収に関与することを報告してきた。しかし、その他の TLRs 群に関する報告は殆どなく、作用機序について未だ不明な点が多い。そこで本論文では、グラム陰性菌および陽性菌の細胞壁に存在するリポペプチドの受容体である Toll like receptor 1 と 2 および Toll like receptor 2 と 6 のヘテロ受容体 (TLR1/2 と TLR2/6) に着目し、TLR2 ヘテロ受容体の骨代謝に及ぼす作用機序の解明を目的とした。また、日常的な緑茶の摂取による閉経後の女性の骨密度の上昇やカテキンによる骨形成誘導の報告、および  $\beta$ -(1,3)-D-グルカン ( $\beta$ -グルカン) の経口投与によりラット歯周病モデルでの骨吸収が抑制されたとの報告がある。そこで、これら二種の天然物質による骨吸収の制御機構の解明を試みた。

第 2 章では、TLR2 ヘテロ二量体リガンドによる細胞レベルおよび器官レベルにおいて、骨吸収作用の発現およびその作用機序の解明を試みた。その結果、骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養において、TLR2 ヘテロ二量体リガンドは、濃度依存的に、破骨細胞形成を亢進した。また、培養液中の  $\text{PGE}_2$  濃度も濃度依存的に増加することを明らかにした。さらに骨芽細胞に対する TLR2 ヘテロ二量体リガンドの作用を調べた結果、TLR2 ヘテロ二量体リガンドにより NF- $\kappa$ B 遺伝子が誘導され、 $\text{PGE}_2$  産生が亢進していることが示唆された。これらの結果より、TLR2 ヘテロ二量体リガンドによる骨吸収亢進作用は、TLR2 のシグナル伝達機構を介した NF- $\kappa$ B 誘導により  $\text{PGE}_2$  産生量が増加し、その増加が RANKL の産生を亢進した結果、破骨化細胞の形成が促され、骨吸収が亢進することが示唆された。

第 3 章では、カテキンの一種であるエピガロカテキンガレート (EGCG) による TLR2 ヘテロ二量体リガンド誘導性骨吸収に及ぼす作用を検討した。その結果、骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系での TLR2 ヘテロ二量体リガンド刺激による破骨細胞形成誘導を EGCG は濃度依存的に抑制することを明らかにした。また、骨芽細胞での  $\text{PGE}_2$  合成に関与する COX-2、mPGES-1 の TLR2 ヘテロ二量体リガンド刺激による遺伝子の誘導が EGCG により抑制されることにより  $\text{PGE}_2$  発現が抑制することが示唆された。またマウス頭頂骨器官培養系において、TLR2 ヘテロ

二量体リガンド刺激による骨吸収活性の亢進が EGCG により有意に抑制することを見出した。これらの結果より、EGCG による骨吸収抑制作用には、骨吸収因子である  $\text{PGE}_2$  産生の制御によるものと推測される。

第 4 章では、 $\beta$ -(1,3)-D-グルカン ( $\beta$ -グルカン) による骨代謝調節作用を検討した。骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系での TLR2 ヘテロ二量体リガンド刺激による破骨細胞形成において、 $\beta$ -グルカン添加により濃度依存的に抑制することが示唆された。一方、培養液中の  $\text{PGE}_2$  濃度は、 $\beta$ -グルカンにより変化がなかったことから、 $\beta$ -グルカンの破骨形成抑制作用は、 $\beta$ -グルカンによる破骨細胞への直接抑制作用あるいは骨芽細胞での RANKL に対する抑制の可能性が考えられる。骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養の培養液中の  $\text{PGE}_2$  濃度の無変化は、骨芽細胞の  $\text{PGE}_2$  産生抑制と破骨細胞の  $\text{PGE}_2$  産生亢進の結果によるかもしれない。

今後、破骨細胞と骨芽細胞を用い、それぞれの細胞に対する  $\beta$ -グルカンの作用を解析するとともに、種々の異なる  $\beta$ -グルカンを使用した今後の研究の成果が待たれる。

本研究により、TLR2 ヘテロ二量体リガンドにより骨吸収を誘導し、骨量を減少させることを明らかにした。すなわち、TLR4 リガンドに加え、TLR2 ヘテロ二量体リガンドの歯周病惹起、進行への関与が示唆された。茶カテキンの一種である EGCG が TLR2 ヘテロ二量体リガンドによる骨吸収を抑制することを明らかにし、カテキンが炎症性骨吸収を呈する骨疾患、歯周病などの病態改善効果を有する可能性が示唆された。 $\beta$ -グルカンは、TLR2 ヘテロ二量体リガンドによる骨吸収を抑制したことから、TLR2 シグナルへの関与が示唆されたが、その作用機序は明確であるとはいえず、今後詳細に検討する必要がある。