

論文内容要旨

論文題名 : Down-regulation of Irf8 by Lyz2-cre/loxP accelerates osteoclast differentiation *in vitro*
(Lyz2-cre/loxP による *Irf8* 遺伝子欠損は細胞培養系でのみ破骨細胞分化を促進する)

掲載雑誌名 : Cytotechnology, 08, August, 2016

掲載

外科系 整形外科学専攻 齋藤 愛美

内容要旨 :

【目的】

Interferon regulatory factor 8(Irf8)は破骨細胞分化を負に調節する転写因子であり、全身で Irf8 を欠損させたマウス(Irf8 KO)は破骨細胞の増加と共に有意に骨量が低下することを我々は報告した(Nat Med. 2009).

本研究では、単球・マクロファージが破骨細胞へ分化する過程における Irf8 の機能を更に詳細に解明するため、単球・マクロファージで特異的に Irf8 を欠損させたコンディショナルノックアウトマウス(Irf8 cKO)を作成し、その解析を行った.

【材料】

単球・マクロファージ系で特異的に発現する Lysozyme M(LysM)をコードする Lyz2 遺伝子座に組換え酵素 Cre を knock-in した LysM-Cre マウスと Irf8 flox マウスを交配し、Irf8 cKO マウスを作成した.

【方法および結果】

Irf8 cKO マウスは μ CT による脛骨近位部骨量計測において、Irf8 KO の様な有意な骨量低下は見られなかった.

一方、骨髄細胞を M-CSF と RANKL で破骨細胞に分化させる細胞培養系においては、Irf8 cKO も Irf8 KO と同様に、破骨細胞の分化マーカーである TRAP 活性の有意な上昇が見られた. この時、M-CSF を添加し培養した Irf8 cKO の骨髄細胞はコントロールマウスと比較して、Irf8 のタンパク質発現量が抑えられていることが Western Blotting により明らかとなった.

次に、野生型マウスの骨髄細胞を使用した破骨細胞分化培養系における Lyz2 の経時的な発現変化を qPCR で確認したところ、骨髄細胞に M-CSF 添

加後 3 日目で発現は有意に上昇し、その後 RANKL 添加により発現は速やかに低下した。

さらに骨髄細胞に M-CSF のみ添加の群と M-CSF と RANKL 同時添加の群を比較すると、同時添加群は Lyz2 の発現上昇が抑制されたまま破骨細胞へと分化した。

【考察】

以上の結果より、Irf8 cKO マウスの培養骨髄細胞は M-CSF 添加により LysM-Cre の発現が誘導されることで Irf8 が欠損し、破骨細胞分化が亢進したと推察される。一方、生体内では LysM を発現しない破骨細胞前駆細胞が破骨細胞へ分化する経路が存在する可能性が新たに示された。