

## 論文要旨

氏名	中尾 優子
タイトル (日英併記)	Accumulation of hyaluronic acid in stromal cells modulates osteoclast formation by regulation of receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand expression (骨髄間質細胞に集積するヒアルロン酸が及ぼす破骨細胞支持能への影響)

## 論文の要旨 (日本語で記載)

【目的】ヒアルロン酸は細胞外マトリクスの主要成分として広く生体内に存在する。近年の研究では、足場としての役割の他に様々な生物活性を有し、細胞の分化・増殖等に関与することが報告されている。ヒアルロン酸は特に関節部に多く存在していることから、骨・軟骨代謝との関連性が示されており、関節病変の病態形成の関与や治療薬としての応用が注目されている。一方で、骨のリモデリングを担う破骨細胞の分化には、骨髄間質細胞上の分化因子の発現が必須であり、この発現が細胞外マトリクスを含めた様々な因子によって制御されることが報告されている。本研究において、破骨細胞支持細胞周囲に集積するヒアルロン酸の変化が、その支持能に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】マウス骨髄間質細胞株である ST2 細胞を、ヒアルロニダーゼあるいは Transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)にて前処理を行った後に、活性型ビタミン D<sub>3</sub> およびデキサメタゾン存在下で培養した。いくつかの実験においては、ST2 細胞におけるヒアルロン酸合成酵素 HAS2 のノックダウンを行うため、HAS2 の特異的 siRNA の遺伝子導入を行なった。培養後の細胞より各サンプルを回収し、培養上清中のヒアルロン酸の濃度および破骨細胞分化因子である Receptor activator for nuclear factor kappa-B ligand (RANKL)の遺伝子、タンパク発現について解析を行った。また、マウス骨髄細胞との共培養実験を行い、破骨細胞分化への影響について検討を行った。分子シグナルの解析を行うため、HAS2 ノックダウンによるビタミン D 受容体 (VDR)の発現および Signal transducers and activator of transcription (STAT3)のリン酸化への影響について解析を行なった。

【結果】ヒアルロニダーゼ前処理によるヒアルロン酸の分解により、活性型ビタミン D<sub>3</sub> およびデキサメタゾンに誘導される RANKL の遺伝子およびタンパクの発現誘導がさらに亢進した。一方で、TGF- $\beta$ 1 前処理によるヒアルロン酸合成酵素 HAS2 の発現誘導を介したヒアルロン酸合成の増加に伴い、RANKL の遺伝子およびタンパク発現誘導は有意に抑制されることが明らかとなった。また HAS2 のノックダウンにより、活性型ビタミン D<sub>3</sub> およびデキサメタゾンに誘導される RANKL の遺伝子およびタンパクの発現誘導が亢進し、HAS2 ノックダウンおよびヒアルロニダーゼ処理の両方を行うことでさらに RANKL の発現が亢進した。この RANKL の発現亢進に対して、高分子ヒアルロン酸の添加は部分的に抑制作用を示した。分子シグナル解析においては、HAS2 のノックダウンにより、活性型ビタミン D<sub>3</sub> およびデキサメタゾンに誘導される VDR 発現は増加傾向を示し、STAT3 のリン酸化は著しく亢進した。

【結論】以上の結果より、ST2細胞に集積するヒアルロン酸はVDRおよびJAK-STAT3シグナル経路を介してRANKLの発現を負に制御することにより、破骨細胞形成支持に関与することが示唆された。