

学 位 論 文 要 旨

研究題目

Effects of TGF- β 1 on the migration and morphology of RAW264.7 cells *in vitro*
(RAW264.7 細胞の遊走および形態における *in vitro* での TGF- β 1 の影響)

歯科口腔外科学 (指導教授 岸本 裕充)
氏 名 上田 美帆

単球・マクロファージ系造血前駆細胞である破骨前駆細胞は、血中から骨表面へ遊走し、骨芽細胞とともに骨リモデリング微小環境を構成し、破骨細胞へ分化する。破骨前駆細胞の骨基質への遊走因子や分化メカニズムに関しては、さまざまな研究が行われているが、破骨前駆細胞が破骨細胞へ分化する過程での遊走能の変化については、十分に解明されていない。本研究では、破骨前駆細胞が、骨リモデリング微小環境内で分化する過程での細胞遊走に関する、トランスフォーミング増殖因子 β 1 (TGF- β 1) の影響を解明することを目的とした。

細胞はマクロファージ系破骨前駆細胞 RAW264.7 細胞 (RAW 細胞) を使用し、TGF- β 1 (2、5、20 ng/ml)、NF- κ B リガンド受容体活性化因子 (RANKL ; 50 ng/ml)、TGF- β 1 受容体キナーゼ活性の特異的阻害剤である SB431542 (SB ; 10 μ M) の有無によって、それぞれ培養した。

RAW 細胞の細胞増殖は、TGF- β 1 添加群で、コントロール群と比較して培養 3 日目から有意に抑制されたが、SB の添加によって増殖抑制は回復傾向を示した。RAW 細胞における酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 活性は、コントロール群と比較して培養 3 日目から有意に増加した。最も TRAP 活性が高かったのは、RANKL+ TGF- β 1 (2 ng/ml) 添加群であった。SB の添加によって TGF- β 1 が阻害された場合、破骨細胞様細胞への分化は著明に抑制された。これらの結果より、TGF- β 1 が、RANKL 存在下に破骨細胞への分化を促進するも、用量依存性には作用しないと考えられた。RANKL と TGF- β 1 を 24 時間作用させた場合、RAW 細胞の遊走能は亢進したが、72 時間作用後には低下した。同様に、RANKL と TGF- β 1 (2、5 ng/ml) を 24 時間作用させた場合、RhoA、Rac のタンパク発現が上昇するも、72 時間作用後には、タンパク発現が減少した。また、TGF- β 1 を 24 時間作用させた RAW 細胞は、円形から細胞突起を多くもつ多角形に形態的变化を示し、72 時間作用させた場合には細胞突起は完全に消失し、多角形から円形の細胞形態へ変化した。

以上の結果より、破骨前駆細胞が、骨リモデリング微小環境内で TGF- β 1 や RANKL のシグナルを受け取ると、TGF- β 1 は、まず RhoA と Rac の産生を誘導することで遊走能を亢進し、その後、破骨細胞への分化開始とともに、RhoA や Rac の産生が減少して遊走能が低下し、成熟した破骨細胞が形成される可能性が示唆された。