

# 論 文 内 容 要 旨

Enhanced osteoclastogenesis in patients with

MSMD due to impaired response to IFN- $\gamma$

(MSMD 患者では IFN- $\gamma$  の反応障害により  
破骨細胞形成が増強する)

Journal of Allergy and Clinical Immunology,

2021, in press.

主指導教員：岡田 賢教授  
(医系科学研究科 小児科学)

三木 瑞香

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症 (MSMD) は、非結核性抗酸菌、サルモネラ菌などの細胞内寄生菌による感染症を繰り返す稀な遺伝性免疫疾患である。細胞内寄生菌は通常、IFN- $\gamma$  により活性化された食細胞により排除される。細胞内寄生菌を取り込んだ食細胞は IL-12 を産生し、IL-12 は IL-12 受容体  $\beta$ 1 (IL-12R $\beta$ 1) を発現した T 細胞や NK 細胞に作用し IFN- $\gamma$  の産生を促進させる。IFN- $\gamma$  は、IFN- $\gamma$  受容体 1 (IFN- $\gamma$ R1) を発現した食細胞を活性化させ、取り込んだ細胞内寄生菌の排除を促す。細胞内寄生菌の排除には IL-12 と IFN- $\gamma$  の共同作業が重要であり、IL-12 シグナル伝達障害や IFN- $\gamma$  反応不良により MSMD を発症する。MSMD の中でも、IFN- $\gamma$  反応不良を示す IFN- $\gamma$ R1, IFN- $\gamma$ R2, STAT1 異常症では多発性骨髄炎を好発する。一方、IL-12 シグナル伝達障害で発症する IL-12R $\beta$ 1 異常症では、多発性骨髄炎は比較的稀である。そこで、多発性骨髄炎と IFN- $\gamma$  のシグナル伝達障害との関連性に着目して研究を行った。

常染色体優性遺伝 (AD) -IFN- $\gamma$ R1 異常症, AD-STAT1 異常症の患者で認められた多発性骨髄炎は、X 線 CT で溶骨性変化とそれに伴う骨石灰化像を呈した。両疾患患者の多発性骨髄炎の病巣部組織標本を、破骨細胞特異的マーカーである TRAP 染色したところ、破骨細胞が顕著に増加しており骨吸収の亢進が推測された。IFN- $\gamma$  は、破骨細胞の形成や骨吸収作用を強力に阻害することが知られている。そこで、IFN- $\gamma$  反応不良を示す AD-IFN- $\gamma$ R1 異常症や AD-STAT1 異常症 (以後、両疾患と略) では、IFN- $\gamma$  による破骨細胞の抑制が障害され、感染局所で破骨細胞の増生と、それによる骨吸収が過剰に起こるという作業仮説を立てた。仮説の検証のため、健常者と両疾患患者の骨髄由来の顆粒球マクロファージコロニー形成細胞 (CFU-GM) から破骨細胞を分化誘導し、様々な濃度の IFN- $\gamma$  を添加することでその影響を検討した。その結果、健常者では低濃度の IFN- $\gamma$  で破骨細胞への分化が抑制されたのに対して、両疾患患者ではその分化抑制に高濃度の IFN- $\gamma$  を必要とした。定量 PCR 法による破骨細胞の主要転写因子 (*NFATC1*) mRNA 発現の検討では、健常者は IFN- $\gamma$  濃度依存的な発現低下を示した。一方、両疾患患者では、IFN- $\gamma$  濃度依存的な *NFATC1* mRNA の発現低下が障害されており、IFN- $\gamma$  による破骨細胞形成の抑制障害を反映したものと考えた。また、破骨細胞の骨吸収能を検討したところ、健常者では低濃度の IFN- $\gamma$  で骨吸収が抑制されたのに対して、両疾患患者では骨吸収の抑制に高濃度の IFN- $\gamma$  が必要であった。そのため、患者では IFN- $\gamma$  依存性の破骨細胞の骨吸収の抑制が障害されていると判断した。次に、IFN- $\gamma$  で誘導される破骨細胞形成の制御に関わる遺伝子群 (*IRF8*, *RANK*, *CSF1R*) を、定量 PCR 法で評価した。両疾患患者由来の分化誘導細胞は、健常者のそれと比べ IFN- $\gamma$  添加で *IRF8* mRNA の低下、*RANK* mRNA の増加を示した。一方、IFN- $\gamma$  添加後の *CSF1R* mRNA は健常者と同程度の発現を示した。マウスにおいて、IFN- $\gamma$  が TRAF6 のタンパク質分解を介して破骨細胞を抑制する報告があるが、同様の実験を行ったところ両疾患患者、健常者ともに IFN- $\gamma$  による TRAF6 タンパク質の発現変動に差を認めなかった。これは、マウスにおいて IFN- $\gamma$  が TRAF6 の抑制を介して破骨細胞を抑制すると報告とは異なる所見であり、ヒトとマウスの破骨細胞の制御機構が異なる可能性が考えられた。IFN- $\gamma$  は STAT1 を介して *IRF8* を直接誘導する。また、破骨細胞分化において *IRF8* は負の調節因子として働いており、*IRF8* 発

現抑制により破骨細胞分化が促進することが知られている。これらのことから両疾患では、IFN- $\gamma$  反応障害のため IRF8 の誘導が障害されており、破骨細胞の形成が促進していると考えた。健常者で認めた IFN- $\gamma$  による *RANK* mRNA の低下は、食細胞の IFN- $\gamma$  処理により RANK のプロモーター領域のメチル化が誘導され、遺伝子発現が抑制されることによるという過去の報告と一致する。一方で両疾患では、IFN- $\gamma$  による RANK の発現抑制が障害されており、RANK を介した NFATc1 の誘導により、成熟破骨細胞の骨吸収が亢進していると考えた。

本研究で、IFN- $\gamma$ R1 異常症や STAT1 異常症では、IFN- $\gamma$  による破骨細胞の形成や骨吸収の抑制が不十分で、そのことが頻回な多発性骨髄炎の原因となる可能性が示唆された。