

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	長谷川 哲雄
主 論 文 題 名				
Identification of a novel arthritis-associated osteoclast precursor macrophage regulated by FoxM1 (関節炎における新規の破骨前駆細胞の同定)				
(内 容 の 要 旨)				
骨破壊を担うユニークな多核細胞である破骨細胞は、骨髄で骨の恒常性維持に重要な役割を果たす一方、関節リウマチでは関節の病的な骨破壊を惹起する。これまで数多くの研究が骨髄・脾臓・血液中の単球系細胞を探索し、破骨前駆細胞の同定が試みられてきたが、病変の主座である「炎症滑膜」における細胞の詳細な解析は、技術的制約により困難であった。今回私は、関節炎モデルマウスにおける膝関節の大腿四頭筋、膝蓋骨、膝蓋靱帯を同時に反転させる独自のプロトコルを用いることで、関節炎で骨破壊を引き起こす炎症滑膜（パンス）を単離することに成功した。このプロトコルを用いることで、滑膜—骨境界領域において他組織には存在しない$CX_3CR1^{hi}Ly6C^{int}F4/80^{hi}I-A/I-E^{+}$のマクロファージサブセットが存在することを見出し、著明な破骨細胞分化能を有することを発見した。これらをarthritis-associated osteoclastogenic macrophage (AtoM) と呼称し、CX_3CR1-EGFP/TRAP-tdTomatoダブルトランスジェニックマウスを用いた骨髄キメラマウスを作成することで、AtoMと関節の骨破壊を担う破骨細胞が、滑膜常在性マクロファージではなく骨髄由来の細胞が関節に流入した後に分化し形成されることを明らかにした。CX_3CR1-EGFP/TRAP-tdTomatoダブルトランスジェニックマウスと野生型マウス (WT) のパラビオーシスモデルにおいても、WTマウスに関節炎を惹起すると、EGFP陽性細胞とtdTomato陽性破骨細胞が関節表面に形成されることを組織学的手法を用いて示し、AtoMや病原性破骨細胞が循環血流を介して関節に流入した細胞に由来することを示した。続いて、これらAtoMが<i>in vitro</i>で最も効率よく破骨細胞へ分化するサイトカインの組み合わせを調べたところ、RANKLとTNFを同時に投与することで、著明に破骨細胞へ分化することが示された。関節表面で破骨細胞へ実際に分化する細胞は少数であることから、これらAtoMの細胞集団の中からさらに破骨細胞へと<i>in situ</i>で分化している細胞集団を同定するため、シングルセル解析を行った。結果、AtoMの中の約1割の細胞が、<i>Acp-5</i>、<i>Ctsk</i>、<i>Atp6v0d2</i>、<i>Mmp9</i>などの破骨細胞マーカー遺伝子を高発現しており、破骨細胞へと分化していることが示された。さらに網羅的トランスクリプトーム解析を行うことで、AtoMの破骨細胞分化能を制御している転写因子の一つとしてFoxM1が抽出され、FoxM1阻害薬とタモキシフェン誘導型Foxm1ノックアウトマウスの両者において、関節炎の骨破壊が軽減された。 以上より、私は関節炎モデルマウスを用いて炎症性滑膜組織に存在する病原性の破骨前駆細胞を同定し、これらの詳細な分化系譜を明らかにした。今後、これらの細胞を標的とした新たな治療戦略の構築が期待される。				