

学位論文

**Roles of Cathelicidin-related Antimicrobial Peptide
in Murine Osteoclastogenesis**

(マウス破骨細胞形成における抗微生物ペプチド

Cathelicidin-related antimicrobial peptide (CRAMP)の役割)

堀部 寛治

大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座
(主指導教員: 宇田川 信之 教授)

松本歯科大学大学院歯学独立研究科(歯学)学位申請論文

**Roles of cathelicidin-related antimicrobial peptide
in murine osteoclastogenesis**

Kanji Horibe

Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine
(Chief Academic Advisor: Professor Nobuyuki Udagawa)

The thesis submitted to the Graduate School of Oral Medicine,
Matsumoto Dental University, for the degree Ph.D. (in Dentistry)

要 旨

Cathelicidin-related antimicrobial peptide (CRAMP)はマウスにおいて発現している抗微生物ペプチドである。CRAMP は殺菌作用を有する。さらに CRAMP は, lipopolysaccharide (LPS)と結合することで, その活性を中和する。CRAMP は骨髄において特に高い発現レベルを示す。CRAMP は炎症性および, 感染性の刺激によって発現が亢進すると報告されている。そこで, 我々はマウスの破骨細胞形成における CRAMP の役割について検討を行った。マウス骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系において, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, prostaglandin E2 (PGE_2)などの破骨細胞形成促進因子および, LPS や Flagellin などの Toll like receptor (TLR)リガンドは, 骨芽細胞における破骨細胞分化因子 receptor activator of nuclear factor- κB ligand (RANKL)の発現誘導を介して破骨細胞分化を誘導する。骨芽細胞と骨髄細胞共存培養系において, CRAMP は LPS と Flagellin が誘導する破骨細胞形成を抑制した。一方で, CRAMP は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, PGE_2 が誘導する破骨細胞形成に対して効果を示さなかった。骨髄マクロファージ (BMM ϕ)において, CRAMP 受容体 formyl peptide receptor 2 (FPR2)は高レベルで発現していた。しかし, BMM ϕ 単独培養系における RANKL 誘導性の破骨細胞分化に対して, CRAMP は抑制効果を示さなかった。CRAMP は, 骨芽細胞培養系において LPS および, Flagellin による RANKL mRNA 発現上昇を抑制した。さらに CRAMP は, BMM ϕ 培養系において tumor necrosis factor (TNF)- α 産生をそれぞれ抑制した。これらの結果から, CRAMP-FPR2 シグナルは破骨細胞形成に関与しておらず, CRAMP は直接, LPS および Flagellin と反応し, その活性を阻害することが示唆された。また, LPS および Flagellin の刺激によって,

骨芽細胞における CRAMP mRNA の発現レベルは著しく上昇した。細胞外からの CRAMP 添加は、LPS および Flagellin が誘導する骨芽細胞における CRAMP 発現上昇を抑制した。これらの結果より、LPS, Flagellin による CRAMP 産生は、CRAMP によるネガティブフィードバック機構により制御されていることが示唆される。CRAMP はマウスにおける破骨細胞形成に対して何も効果を示さない。しかし以上の結果より、細菌感染によって惹起される炎症性骨吸収においては、CRAMP は骨芽細胞から分泌される骨吸収防御因子として働くことを我々は提唱する。