

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
高橋直之	骨吸収	福永仁夫	実践・骨代謝マーカー	メディカルレビュー社	東京	2003	39-52
小林泰浩、 高橋直之	破骨細胞の分化と活性制御	宮坂信之、野田政樹、西岡久寿樹	骨・関節疾患	朝倉書店	東京	2003	51-55
佐伯 行彦	オステオポンチンと骨吸収性疾患	七川 歆次	リウマチ病セミナー XIV	永井書店	大阪	2003	102-10
広畑 俊成	10.リウマチ性疾患およびアレルギー性疾患 I.リウマチ性疾患 10-10 Behcet 病	杉本恒明、小俣政男、水野美邦	内科学(第8版)	朝倉書店	東京	2003	1257-1260
広畑 俊成	33.生理活性物質検査 36.穿刺液検査	櫻林郁之介、中川武正、星恵子、板橋明、広畑俊成、伊藤要一	今日の臨床検査	南江堂	東京	2003	430-460 504-507
広畑 俊成	ベーチェット病	森田寛、永倉俊和、広畑俊成	治療薬ハンドブック 喘息・アレルギー・リウマチ疾患	メディカルレビュー社	東京	2003	169-176
広畑 俊成	各論 骨・関節疾患 1. 骨粗鬆症 2. 関節リウマチ 3. 変形関節症	石崎高志、鎌滝哲也、望月真弓	薬物療法学	南江堂	東京	2003	205-219

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
中山久徳 松井利浩 杉井章二 小澤義典 當間重人	末期関節リウマチにおける骨粗鬆症と椎体骨折	臨床リウマチ	14	139-147	2002
中山久徳	リウマチ性疾患患者にみられる二次性骨粗鬆症	MEDICAL FORUM CHUGAI	7	2-8	2003
中山久徳	骨粗鬆症の実地診療	実験治療	671	22-26	2003
Tsuboi, H., Matsui, Y., Hayashida, K., Yamane, S., Maeda-Tanimura, M., Nampei, A., Hashimoto, J., Suzuki, R., Yoshikawa, H., Ochi, T.	Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) positive cells in rheumatoid synovium may induce the destruction of articular cartilage	Annals of Rheumatic Diseases	62(3)	196-203	2003
Tanaka, S., Tatsumi, K., Tomita, T., Kimura, M., Takano, T., Yoshikawa, H., Amino, N.	Novel autoantibodies to pituitary gland specific factor 1a in patients with rheumatoid arthritis	Rheumatology (Oxford)	42	353-356	2003
Nakase, T., Miyaji, T., Tomita, T., Kaneko, M., Kuriyama, K., Myoui, A., Sugamoto, K., Ochi, T., Yoshikawa, H.	Localization of bone morphogenetic protein-2 in human osteoarthritic cartilage and osteophyte	Osteoarthritis Cartilage	11	278-284	2003
Fujii, M., Tomita, T., Nakanishi, K., Kaneko, M., Hayashida, K., Sugamoto, K., Ochi, T., Yoshikawa, H.	The value and limitation of gadopentetate-enhanced magnetic resonance imaging in detecting the condition of anterior cruciate ligament in rheumatoid knee: comparative study with histology	European Radiology	13	1728-1734	2003
Nishikawa, M., Myoui, A., Tomita, T., Takahi, K., Nampei, A., Yoshikawa, H.	Prevention of the onset and progression of collagen-induced arthritis in rats by the potent p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor FR167653	Arthritis and Rheumatism	48	2670-2681	2003
Mukai, Y., Hosono, N., Sakaura, H., Ishii, T., Fuchiya, T., Fujiwara, K., Fuji, T., Yoshikawa, H.	Laminoplasty for cervical myelopathy caused by subaxial lesions in rheumatoid arthritis	Journal of Neurosurgery	100	S7-12	2004
Inaba, M., Nagata, M., Goto, H., Kumeda, Y., Kobayashi, K., Nakatsuka, K., Miki, T., Yamada, S., Ishimura, E., Nishizawa, Y.	Preferential reductions of paraarticular trabecular bone component in ultradistal radius and of calcaneus ultrasonography in early-stage rheumatoid arthritis	Osteoporos Int	14	683-7	2003
小林泰浩、宇田川信之、高橋直之	骨吸収調節機構	最新医学	58	2631-2639	2003

宇田川信之、高橋直之、	図説：ビスフォスホネートの作用機序	日本臨床	61	178-179	2003
高橋直之、小林泰浩、宇田川信之、	骨吸収を促進する炎症性サイトカインと細菌菌体成分の作用機構	エンドトキシン研究	6	36-42	2003
山下照仁、高橋直之	骨吸収・骨形成のメカニズム	Hormone Frontier in Gynecology	10	341-346	2003
溝口利英、高橋直之	RANKL/RANK 系による骨吸収の制御	治療学	37	1242-1246	2003
奥村茂樹、宇田川信之、高橋直之	概論破骨細胞の分化・骨吸収調節機構	日本臨床	62 (増刊2)	90-96	2004
宇田川信之、中村美どり、高橋直之	破骨細胞分化因子 RANKL	日本臨床	62 (増刊2)	97-101	2004
中道裕子、高橋直之	骨のリモデリングと骨粗鬆症	カレントセラピー	22	214-217	2004
Nakamichi Y, Shukunami C, Yamada T, Aihara K, Kawano H, Sato T, Nishizaki Y, Yamamoto Y, Shindo M, Yoshimura K, Nakamura T, Takahashi N, Kawaguchi H, Hiraki Y, Kato S	Chondromodulin I is a bone remodeling factor.	Mol Cell Biol	23	636-644	2003
Itoh K, Udagawa N, Kobayashi K, Suda K, Li X, Okahashi N, Nishihara N, Takahashi N	LPS promotes the survival of osteoclasts via Toll-like receptor 4, but cytokine production of osteoclasts in response to LPS is different from that of macrophages.	J Immunol	170	3688-3695	2003
Takahashi N, Sasaki T, Tsouderos Y, Suda T	Strontium ranelate inhibits osteoclastic bone resorption.	J Bone Miner Res	18	1082-1087	2003
Takami M, Suda K, Sahara T, Itoh K, Nagai K, Sasaki T, Udagawa N, Takahashi N	Involvement of vacuolar H <sup>+</sup> -ATPase in specific incorporation of risedronate into osteoclasts.	Bone	32	341-349	2003
Takahashi N, Udagawa N, Tanaka S, Suda T	Generating murine osteoclasts from bone marrow.	Methods Mol Med	80	129-144	2003
Nakagawa H, Takami M, Udagawa N, Sawae Y, Suda K, Sasaki T, Takahashi N, Wachi M, Nagai K, Woo JT	Destruixins, cyclodepsi-peptides, block the formation of actin rings and prominent clear zones and ruffled borders in osteoclasts.	Bone	33	443-455	2003

Li X, Udagawa N, Takami M, Sato N, Kobayashi Y, Takahashi N	: p38 MAPK is crucially involved in osteoclast differentiation but not in cytokine production, phagocytosis or dendritic cell differentiation of bone marrow macrophages.	Endocrinology	144:	4999-5005,	2003
Nakamura M, Udagawa N, Matsuura S, Mogi M, Nakamura H, Horiuchi H, Saito N, Hiraoka BY, Kobayashi Y, Takaoka K, Ozawa H, Miyazawa H, Takahashi N	Osteoprotegerin regulates bone formation through a coupling mechanism with bone resorption.	Endocrinology	144	5441-5449	2003
Suda K, Udagawa N, Sato N, Takami M, Itoh K, Woo JT, Takahashi N, Nagai K	Suppression of osteoprotegerin expression by PGE <sub>2</sub> is crucially involved in LPS-induced osteoclast formation.	J Immunol	172	2504-2510	2004
Yoshida, T., Y. Tsuruta, M. Iwasaki, S. Yamane, T. Ochi and R. Suzuki	SRCL/CL-P1 Recognizes GalNAc and a Carcinoma-Associated Antigen, Tn Antigen	J Biochem	133 (3)	271-7	2003
Takano, H., T. Tomita, T. Toyosaki-Maeda, M. Maeda-Tanimura, H. Tuboi, H. Yoshikawa, T. Takahashi, R. Suzuki and T. Ochi.	Comparison of the activities of multinucleated bone-resorbing giant cells derived from CD14-positive cells in the synovial fluids of rheumatoid arthritis and osteoarthritis patient	Rheumatol	Feb,3	In press	2004
Yamaguchi N, Ohshima S, Umeshita-Sasai M, Nishioka K, Kobayashi H, Mima T, Kishimoto T, Saeki Y.	Synergistic effect on the attenuation of collagen induced arthritis in tumor necrosis factor receptor I (TNFR1) and interleukin 6 double knockout mice.	J Rheumatol	30(1)	22-7	2003
Ishii T, Tatekawa T, Koseto M, Ishii M, Kobayashi H, Koike M, Fujii T, Saeki Y.	A case of multicentric Castleman's disease demonstrating severe eosinophilia and enhanced production of interleukin-5.	Eur J Haematol	70(2)	115-8	2003
Ishii M, Yamaguchi N, Ohshima S, Ishii T, Mori KL, Kimura H, Morishima T, Kawase I, Saeki Y.	Possibility of preventive treatment for EBV-associated NK cell-lineage proliferative disorders.	Intern Med	42(3)	250-4	2003
Saeki Y, Mima T, Ishii T, Ogata A, Kobayashi H, Ohshima S, Ishida T, Tabunoki Y, Kitayama H, Mizuki M, Katada Y, Asaoku H, Kitano M, Nishimoto N, Yoshizaki K, Maeda M, Kon S, Kinoshita N, Ueda T, Kawase I.	Enhanced production of osteopontin (OPN) in multiple myeloma (MM): Clinical and pathogenic implications.	Br J Haematol	123 (2)	263-70	2003
Ishii T, Ohshima S, Ishida T, Kawase I, Mima T, Tabunoki Y, Kobayashi H, Maeda M, Ueda T, Liaw L, Kinoshita N, Saeki Y.	Mice with osteopontin deletion remain predisposed to collagen-induced arthritis.	Arthritis Rheum.	50(2)	669-71	2004
Ishii T, Ohshima S, Ishida T, Mima T, Tabunoki Y, Kobayashi H, Maeda M, Ueda T, Liaw L, Kinoshita N, Kawase I, Saeki Y.	Osteopontin(OPN) as a positive regulator in the osteoclastogenesis of arthritis.	Biochem Biophys Res Commun			(inpress)

秋山 達 田中 栄 他	Regulation of Osteoclast Apoptosis by Ubiquitination of Proapoptotic BH3-only Bcl-2 Family Member Bim.	Embo J.	22	6653-6664	2003
山本愛一郎 田中 栄 他	Suppression of arthritic bone destruction by adenovirus-mediated dominant negative ras gene transfer to synoviocytes and osteoclasts.	Arthritis Rheum	48	2682-2692	2003
瀬戸 宏明 田中 栄 他	Distinct Role of Smad Pathways and p38 Pathways in Cartilage-specific Gene Expression in Synovial Fibroblasts.	J Clin Invest	113	718-726.	2004
Shibuya H, Nagai T, Ishii A, Yamanoto K, Hirohata S.	Differential regulation of Th1 responses and CD154 expression in human CD4+ T cells by IFN- $\alpha$ .	Clin Exp Immunol	132	216-224	2003
Takizawa K, Takeuchi F, Nabeta H, Hirohata S, Takeuchi A, Matsumura Y, Yamamoto K.	Association of transporter associated with antigen processing genes with Behcet's disease in Japanese.	Autoimmunity	36	161-165	2003
Takayanagi M, Haraoka H, Kikuchi H, Hirohata S.	Myocardial infarction caused by rheumatoid vasculitis: histological evidence of the involvement of T lymphocytes.	Rheumatol Int	23	315-318	2003
三田村巧, 武井正美, 澤田滋正	ウイルスとリウマチ疾患	日大医学会雑誌	62	623-638	2003
Shiraiwa H, Takei M, Yoshikawa T, Azuma T, Kato M, Mitamura K, Ueki T, Kida A, Horie T, Seki N, Sawada S.	Detection of Grb-2 related adppter protein (Grap) gene and peptide molecule in salivary glands from MRL/lpr model mice and patients with Sjogren's syndrome	J International Medical Research	In press		2004
Sawada S, Takei M.	Reactivation of immanent herpes group virus.	Internal Medicine	42	140-1	2003
Ito, A., Jippo, T., Wakayama, T., Morii, E., Koma, Y.I., Onda, H., Nojima, H., Iseki, S., Kitamura, Y.:	SgIGSF: a new mast-cell adhesion molecule used for attachment to fibroblasts and transcriptionally regulated by MITF.	Blood	101 (4)	2601-2608	2003.
Yabuta, N., Kajimura, N., Mayanagi, K., Sato, M., Gotow, T., Uchiyama, Y., Ishimi, Y., and Nojima, H.	Mammalian Mcm2/4/6/7 complex forms a toroidal structure.	Genes Cells	8(5)	413-421	2003.
Okuzaki, D., Satake, W., Hirata, A. and Nojima, H.	Fission Yeast <i>meu1<math>\Delta</math></i> is required for proper nuclear division and accurate formation of forespore membrane during meiosis II.	J. Cell. Sci.	116 (13)	2721-2731	2003.

## (4) 研究成果の刊行物

(平成15年度)

「実践・骨代謝メーカー」  
メディカルビュー社

2003年

## 第I章 骨・コラーゲン代謝の基礎

2003 実践骨代謝

# 1 骨代謝

## — 2. 骨吸収

高橋直之

松本歯科大学総合歯科医学研究所

### 言

骨吸収は破骨細胞によって担われる。破骨細胞は単球/マクロファージ系の前駆細胞より分化する。この破骨細胞の分化と機能は、骨形成をつかさどる骨芽細胞/骨髄細胞由来ストローマ細胞により調節されている。最近、骨芽細胞/ストローマ細胞が発現し破骨細胞の分化と機能を調する破骨細胞分化因子(ODF/RANKL/TRANCE/OPGL)がクローニングされ、骨吸収の調節機構が分子レベルで明らかにされた。骨吸収は、骨代謝調節ホルモンとともに局所で産される各種のサイトカインにより調節される。骨吸収を促進する因子は骨芽細胞/ストローマ細胞に作用して破骨細胞分化因子の発現を促進する。さらに、グラム陰性菌の細胞膜を構成するリポ多糖(lipopolysaccharide ; LPS)も炎症性骨吸収において重要な役割を担っている可能性が示唆される。本稿では、これらの知見を含めて、破骨細胞の分化と機能の調節機構について説きたい。

### 破骨細胞の分化と機能を調節する骨芽細胞

破骨細胞の形成を解析できるマウスの骨芽細胞/ストローマ細胞と造血系細胞の共存培養系が

開発され、破骨細胞の分化に骨芽細胞が深く関与することが明らかにされた<sup>1)2)</sup>。この共存培養系に活性型ビタミンD [ $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ]、副甲状腺ホルモン(PTH)、プロスタグランジン  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ )、あるいはインターロイキン 11(IL-11)を添加すると、6~8日後に破骨細胞が出現する。この共存培養において、造血細胞と骨芽細胞/ストローマ細胞の接触を阻止すると破骨細胞は形成されないことから、骨芽細胞/ストローマ細胞が供給する微細環境が破骨細胞の分化にきわめて重要な役割を演じていることが示された。 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 受容体(VDR)をノックアウトしたマウスより得た骨芽細胞と正常マウスより得た脾細胞の共存培養系を活性型ビタミンDで処理しても、破骨細胞は形成されない<sup>3)</sup>。

一方、VDR欠損マウス由来の脾細胞は正常の骨芽細胞との共存培養において $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の存在下で破骨細胞に分化する。同様に、共存培養において、PTH<sup>4)</sup>、 $\text{PGE}_2$ <sup>5)</sup>、IL-11<sup>6)</sup>も骨芽細胞に作用して破骨細胞の形成を誘導することが示された。これらの知見を基に、骨芽細胞は骨吸収促進因子の刺激で破骨細胞の分化を促進する因子(破骨細胞分化因子: osteoclast differentiation factor; ODF)を発現するという仮説が提唱された<sup>2)7)</sup>(図1)。

一方、骨芽細胞をほとんど含まない破骨細胞画分を集める方法が確立され、破骨細胞の機能に及ぼす骨芽細胞の役割が解析された<sup>8)</sup>。

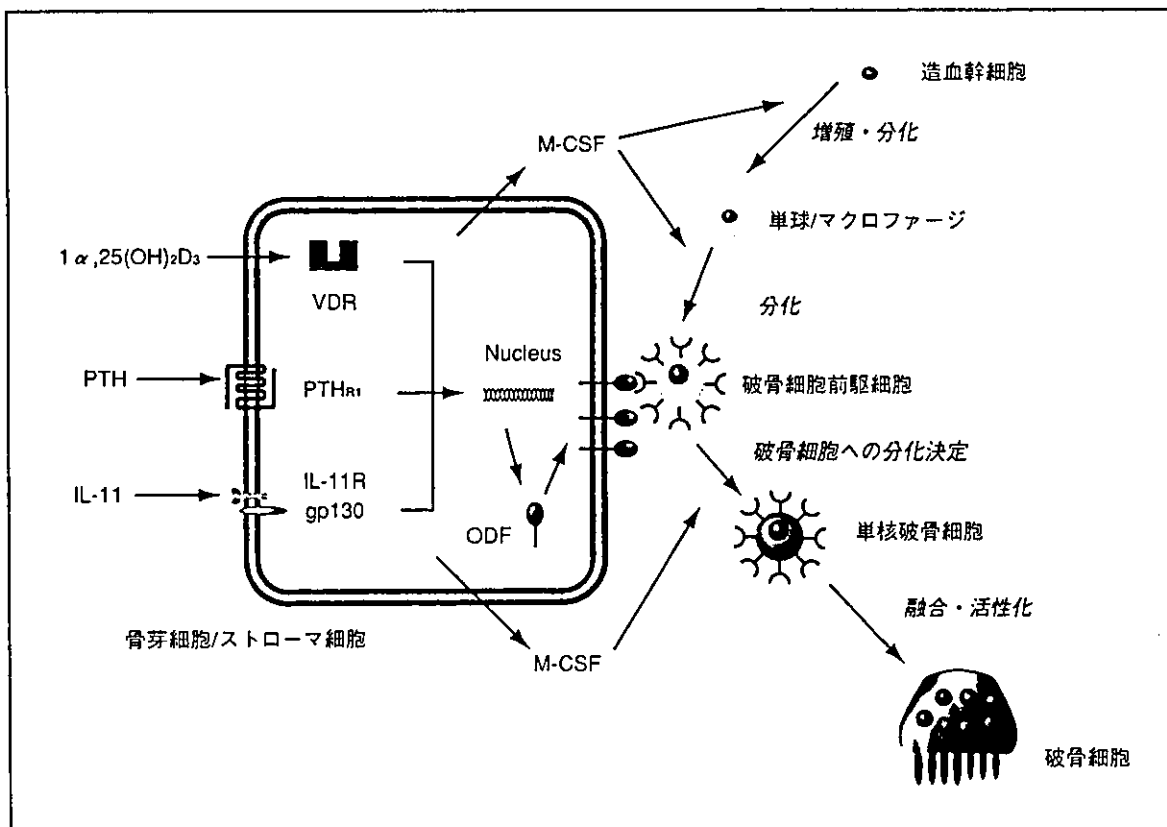


図1 破骨細胞の形成と機能を調節する骨芽細胞の作用

骨芽細胞は骨吸収促進因子の刺激により破骨細胞分化因子(ODF)を細胞膜上に発現する。単球/マクロファージ系細胞の骨細胞前駆細胞はその受容体を発現しており、細胞間接触機構を介して単核破骨細胞に分化する。また、骨芽細胞は破骨細胞前駆細胞の増殖と分化を促進するM-CSFを産生する。



その結果,

- ①純化された破骨細胞はほとんど吸収窩形成能を示さない。
- ②純化された破骨細胞に骨芽細胞を添加すると、その骨吸収活性は著しく促進される。
- ③この破骨細胞の活性化には、骨芽細胞との接触を介した相互作用が必要である。

これらの知見より、骨芽細胞は細胞間接触機構を介して、破骨細胞の分化のみならず骨吸収性も促進することが明らかとなった<sup>8)</sup>。

破骨細胞の前駆細胞が造血系細胞であることは誰もが認めるものであったが、前駆細胞の譜について、長い間議論的であった。しかし、最近の知見は、破骨細胞は単球/マクロファージ系細胞から分化することを示している<sup>9)-13)</sup>。

- ①共存培養系でマウスの肺泡マクロファージも破骨細胞に分化する<sup>9)</sup>。
- ②共存培養系において、ヒトの末梢血の単球も効率よく破骨細胞に分化する<sup>10)11)</sup>。
- ③破骨細胞の分化マーカーであるカルシトニン受容体を最初に発現する単核細胞はマクロファージのマーカーも発現している<sup>12)</sup>。
- ④破骨細胞に分化するマクロファージの株細胞(RAW-264, MC 7)が存在する<sup>13)14)</sup>。
- ⑤コロニー形成実験より、破骨細胞にのみ分化するコロニーは認められず、必ずマクロファージコロニーの中に破骨細胞が出現する<sup>15)</sup>。

これらの知見より、破骨細胞の前駆細胞は単球/マクロファージ系細胞であると結論され<sup>1)</sup>。また、破骨細胞にのみ分化する細胞系譜は存在しないものと考えられた。

## 2 破骨細胞の形成における M-CSF の役割

大理石骨病を呈する *op/op* マウスの解析より、骨芽細胞が産生する macrophage stimulating factor(M-CSF)が破骨細胞の形成に必須な因子であることが証明された<sup>16)</sup>。マウスの M-CSF の構造遺伝子に余分なチミジン 1 個の挿入が認められ、*op/op* マウスを有する M-CSF を産生できない<sup>16)</sup>。*op/op* マウスに M-CSF を投与すると破骨細胞が出ること<sup>17)</sup>、*op/op* マウスから得られた骨芽細胞には破骨細胞形成支持能がないことが示され、さらに、M-CSF は破骨細胞前駆細胞の増殖のみならず分化過程にも必須な因子であることが示された<sup>18)</sup>。

以上のように、骨芽細胞が発現する M-CSF は破骨細胞の形成に必須な因子であり、*op/op* マウスに vascular endothelial growth factor(VEGF)を投与すると、破骨細胞に誘導され、大理石骨病が治癒されることが報告された<sup>20)</sup>。VEGF 受容体は M-CSF と構造上類似性があることより、VEGF も M-CSF と同様なシグナルを破骨細胞前駆細胞に伝達するものと考えられる。

われわれは、破骨細胞形成を支持する M-CSF の存在様式を詳細に解析した<sup>21)</sup>。その骨芽細胞は可溶性とともに膜結合型の M-CSF を産生すること、および破骨細胞形成を

M-CSF は、膜結合型である可能性を見出した。このように、破骨細胞形成に必須なRANKLとM-CSFは、ともに膜結合型として破骨細胞前駆細胞にシグナルを送るものと考えられる。このような両因子の存在様式は、破骨細胞が特定の部位にのみ誘導される機序を説明するかもしれない。

### 3 破骨細胞の分化と機能を調節する RANKL の役割

1997年、破骨細胞の形成を抑制するTNF受容体ファミリーに属する分泌蛋白としてosteoprotegerin(OPG)/osteoclastogenesis inhibitory factor(OCIF)が単離・同定された<sup>22)23)</sup>。さらに、OPG/OCIFが結合するリガンドとしてosteoclast differentiation factor(ODF)/OPG ligand(OPGL)がクローニングされた<sup>24)25)</sup>。ODF/OPGLは他の研究グループがすでに同定したTNF-related activation-induced cytokine(TRANCE)<sup>26)</sup>/receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand(RANKL)<sup>27)</sup>と同一サイトカインであった。このサイトカインの受容体はRANKであ

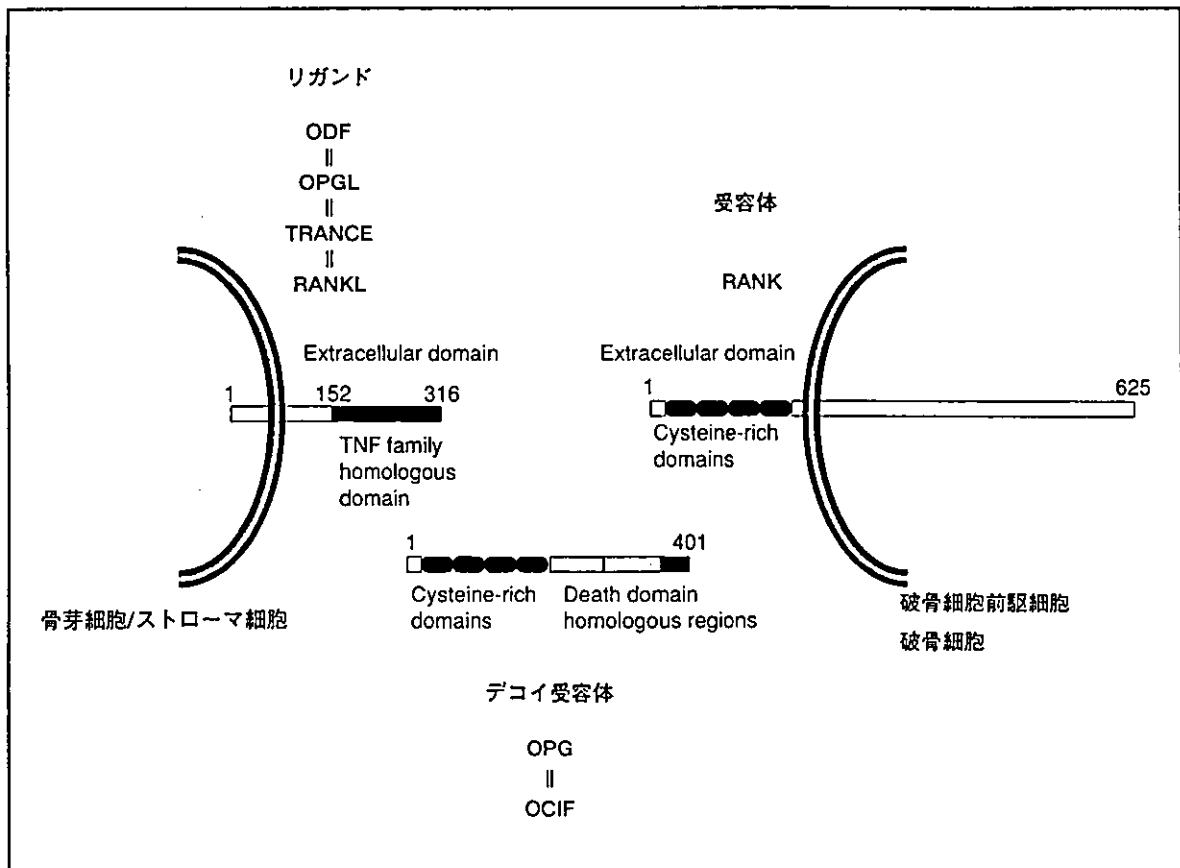


図2 破骨細胞の形成と機能を調節する RANKL, RANK, OPG の構造

破骨細胞分化因子はTNFリガンドファミリーに属する膜結合ドメインをもつサイトカインで、ODF, OPGL, TRANCE, RANKLの4つの名前でよばれる。その受容体はRANKである。また、破骨細胞分化因子とその受容体との結合を競争的に阻害するOPGあるいはOCIFとよばれるデコイ(おとり)受容体が存在する。米国骨代謝学会は、これら因子の名称の混乱を避けるために、リガンドは「RANKL」、受容体は「RANK」、デコイ受容体は「OPG」を用いることを推奨している<sup>28)</sup>。

る。本稿では、米国骨代謝学会の指摘に従い、リガンドは「RANKL」、受容体は「RANK」、デコイ受容体は「OPG」の用語を用いる(図2)<sup>28)</sup>。

RANKLは骨芽細胞が産生する膜結合型因子である。破骨細胞前駆細胞はRANKを発現しており、細胞間接触を介してRANKLを認識し破骨細胞に分化する<sup>29)</sup>。骨芽細胞の非存在下でも、細胞内と膜結合ドメインを欠いた可溶性RANKLとM-CSFを脾細胞培養系に添加すると破骨細胞が誘導される。活性型ビタミンD、PTH、IL-11などの骨吸収因子は骨芽細胞に作用し、RANKLの発現を促進する<sup>24)</sup>。破骨細胞も高いレベルのRANKを発現しており、RANKLは破骨細胞の骨吸収活性を誘導する。一方、OPGはRANKLのデコイ受容体としてその作用を抑制する<sup>29)</sup>。最近、RANKL<sup>30)</sup>とRANK<sup>31)32)</sup>をノックアウトしたマウスの所見が報告された。それによると、

- ① RANKLおよびRANK欠損マウスは破骨細胞がまったく存在せず、典型的な大理石骨病を発症する。
- ② RANKL欠損マウスに正常マウスの造血幹細胞を移植しても大理石骨病は治癒しない。一方、RANK欠損マウスに正常マウスの造血幹細胞を移植すると大理石骨病は治癒する。
- ③ 共存培養系において、RANKL欠損マウス由来の骨芽細胞は破骨細胞形成支持能がない。また、RANK欠損マウスの脾細胞はRANKLとM-CSFの存在下でも破骨細胞に分化しない。

これらの知見より、破骨細胞前駆細胞はRANKを、骨芽細胞はそのリガンドであるRANKLをそれぞれ発現すること、およびRANKを介するシグナル伝達系が破骨細胞形成に必須であることが証明された。さらに、RANK欠損マウスに $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、PTH、IL-1を投与しても破骨細胞はまったく出現せず、これらの骨吸収因子はRANKLの発現誘導を介してのみ破骨細胞を誘導することが示唆された<sup>32)</sup>。最近、骨吸収亢進を伴う遺伝性疾患である家族性拡張性骨溶解症(FEO)および家族性骨Paget病の原因の1つとして、RANK遺伝子の恒常的活性化変異が報告され、ヒトの骨代謝においてもRANKを介する信号伝達経路が重要な役割を果たしていることが明らかにされた<sup>33)</sup>。

一方、単離した破骨細胞を用いた実験から、RANKLは破骨細胞の分化のみならず活性化も誘導することが示された<sup>34)35)</sup>。さらに、骨芽細胞が誘導する破骨細胞の骨吸収能はOPGの添加により完全に抑制された。以上の結果より、破骨細胞の機能を促進する骨芽細胞の作用はRANKLを介するものであることが証明された。

## 4 RANKLの発現調節とRANKのシグナル系

活性型ビタミンDはVDRを介して、IL-11やIL-6はgp130を介してRANKLの発現を促進する<sup>29)</sup>。一方、PTH、 $\text{PGE}_2$ によるRANKLの発現上昇はcAMPが仲介するものと考えられる。最近、骨芽細胞をイオノマイシンで処理したり、細胞外Ca濃度を上昇させたりすることに

より、骨芽細胞の細胞内 Ca レベルが上昇すると、PKC(protein kinase C)の活性化を介して RANKL の発現が誘導されることが報告された<sup>36)</sup>。このように、骨芽細胞における RANKL 遺伝子の発現は、少なくとも4つの独立したシグナル系(VDR, gp 130, cAMP/PKA, Ca/PKC)により調節されている(図3)。一方、T細胞の RANKL の発現調節も解析され、T細胞受容体の刺激、イオノマイシン、デキサメタゾン処理により RANKL mRNA の発現が上昇することが報告された<sup>37)</sup>。T細胞の RANKL の発現調節は骨芽細胞のそれとはかなり異なることが予想される。

RANKL-RANK シグナル系は NF- $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B), JNK(c-Jun N-terminal kinase), p38 MAPK(mitogen-activated protein kinase), ERK(extracellular signal regulated kinase)などを活性化する。TNF 受容体ファミリーメンバーのシグナル伝達因子とし

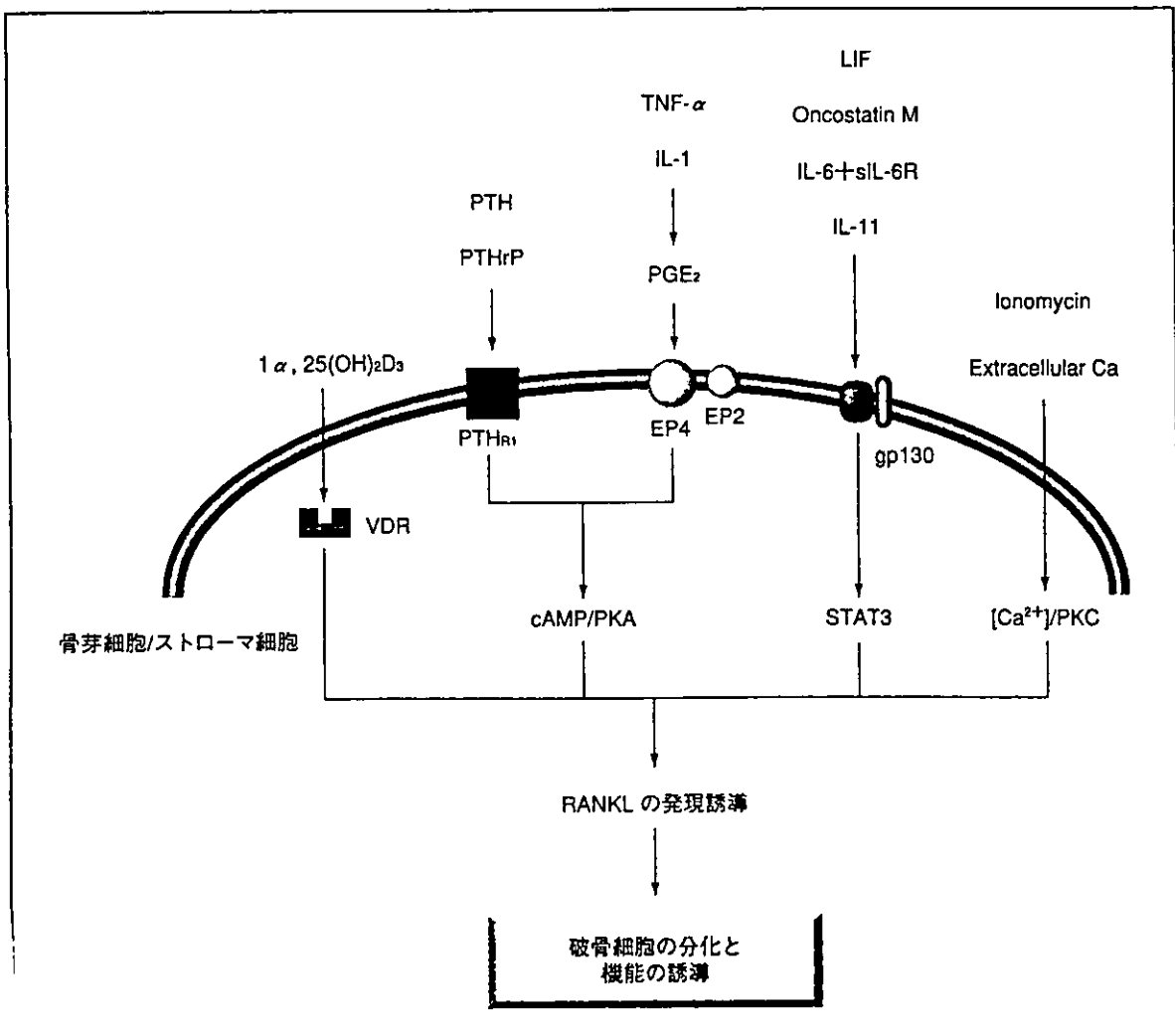


図3 骨芽細胞/ストローマ細胞における RANKL を誘導するシグナル系

骨芽細胞における RANKL 遺伝子は、少なくとも4つの独立したシグナル系を介して発現誘導される。活性型ビタミンDは VDR を介して、IL-11 や IL-6 は gp 130 を介して、PTH, PGE<sub>2</sub> は cAMP/PKA を介して RANKL 遺伝子の発現を促進する。さらに、[Ca<sup>2+</sup>]/PKC の活性化も RANKL の発現を誘導する。これらのシグナルは共存培養系で破骨細胞の形成を支持するものである。

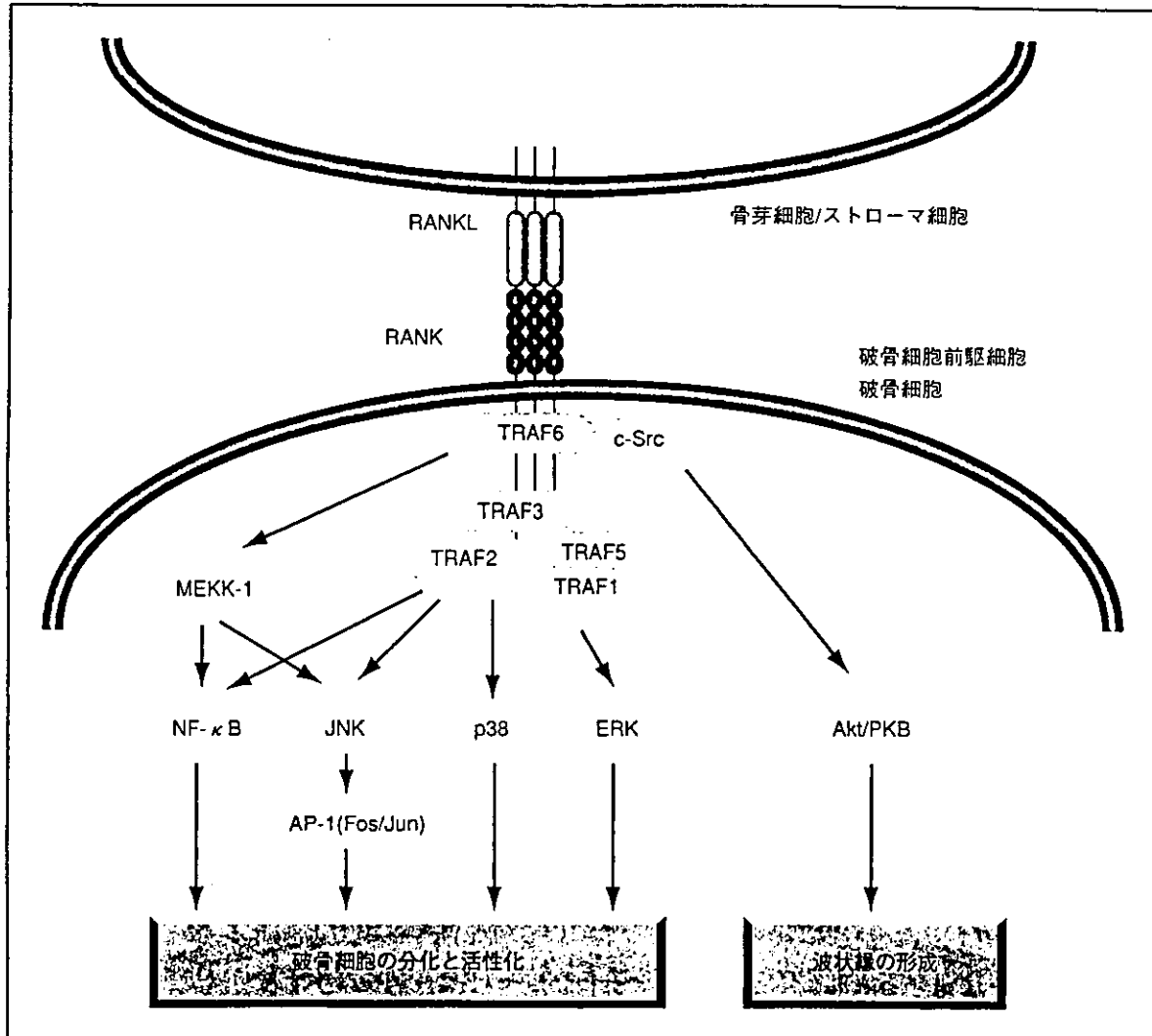


図4 RANKL-RANK 相互作用と RANK を介するシグナル系

RANK は TRAF 1, TRAF 2, TRAF 3, TRAF 5, TRAF 6 と会合する。さらに、RANK シグナル系は NF- $\kappa$ B, JNK, p38 MAPK, ERK を活性化する。さらに、RANKL による RANK の刺激は Akt/PKB を活性化する。これらのシグナル伝達系が破骨細胞の分化と機能を調節すると考えられる。

て、TRAFs(TNF receptor associate factors)が注目される。RANK は TRAF 1, TRAF 2, TRAF 3, TRAF 5, TRAF 6 と会合することが報告されている<sup>38)-42)</sup>。そのなかでも、とりわけ TRAF 6 の重要性が最近指摘されている<sup>43)-45)</sup>。Amgen と東京大学医科学研究所の研究グループは、TRAF 6 の欠損マウスは典型的な大理石骨病を発症することを報告した。Lomaga ら<sup>43)</sup> (Amgen)の知見によると、TRAF 6 欠損マウスの骨組織に破骨細胞は存在するが、その破骨細胞は波状縁を形成できないという。一方、Naito ら<sup>44)</sup>(東京大学医科学研究所)は TRAF 6 欠損マウスの骨組織では破骨細胞数が著しく低下していると報告した。さらに、TRAF 6 欠損マウスより得た脾細胞はほとんど破骨細胞に分化できないことが示された。これらの知見は、破骨細胞の分化に TRAF 6 が重要な役割を果たしていることを示すものである(図4)。さらに、破骨細胞前駆細胞に TRAF 6 を過剰発現させると、RANKL 非存在下でも前駆細胞は破骨細胞に

分化することが報告され、破骨細胞分化における TRAF 6 の重要性が確認された<sup>45)</sup>。最近、RANKL が RANK に結合すると、c-Src と TRAF 6 は RANK の細胞内ドメインを介して結合し、anti-apoptotic serine/threonine kinase/protein kinase B (Akt/PKB) を活性化することが報告された(図 4)<sup>46)</sup>。今後の研究で、破骨細胞の分化と機能を調節する TRAF のシグナル伝達機構がさらに詳細に解明されることが期待される。

## 5 Tリンパ球による骨吸収の調節

骨組織のほかにも多くの組織で RANKL の発現は認められる<sup>24)-27)</sup>。胸腺もその1つで、T細胞が産生する RANKL が、関節リウマチ患者の関節・骨破壊に関与している可能性が指摘される。実際に、関節リウマチ患者の関節部位に存在する T細胞は RANKL を高発現しており、関節液中にも可溶性 RANKL が高濃度検出される<sup>47)</sup>。アジュバンド誘発関節炎ラットに OPG を投与すると炎症の発症は抑制されないが、骨破壊は抑制されることが報告された<sup>37)</sup>。最近、若年性歯周炎の患者より得られた CD4<sup>+</sup> Tリンパ球を、Tリンパ球と Bリンパ球が存在しない NOD/SCID マウスに移植し、さらに歯周病菌である *Actinobacillus actinomycetemcomitans* をチャレンジすると、歯槽骨吸収が誘導されることが報告された<sup>48)</sup>。この歯槽骨吸収は、OPG 投与により一定程度は抑制されたが、完全には抑制されなかった。この知見は、歯周炎における歯槽骨吸収に Tリンパ球が産生する RANKL が重要な役割を演じていること、さらにほかの炎症性サイトカインもこの歯槽骨吸収に関与している可能性を示すものである。一方、活性された T細胞は破骨細胞形成抑制因子である interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) を産生する。最近、IFN- $\gamma$  は破骨細胞前駆細胞の TRAF 6 の分解を促進することで破骨細胞形成を抑制する可能性が指摘された<sup>49)</sup>。T細胞は、このように破骨細胞形成を促進する因子と抑制因子を産生することで骨吸収を調節するものと考えられる。

## 6 TNF- $\alpha$ , IL-1, LPS による骨吸収促進機構

TNF- $\alpha$  と IL-1 は骨芽細胞に作用し RANKL の発現を誘導する。さらに、IL-1 は RANKL と同様に破骨細胞の吸収機能を誘導する<sup>50)</sup>。IL-1 によるこの作用は OPG によって抑制されず、IL-1 受容体アンタゴニストにより抑制されるため、IL-1 は IL-1 受容体を介して破骨細胞の骨吸収機能を誘導することを示している<sup>50)</sup>。一方、TNF- $\alpha$  は破骨細胞の前駆細胞である骨髄由来マクロファージに直接作用し破骨細胞への分化を誘導する<sup>51)52)</sup>。このマウス TNF- $\alpha$  による破骨細胞形成促進作用は OPG の添加により抑制されず、TNF I 型受容体ならびに TNF II 型受容体に対する中和抗体によって強力に抑制された<sup>51)</sup>。この知見は TNF I 型受容体および II 型受容体両者からのシグナルが破骨細胞の分化に重要であることを示唆する。またマウス TNF- $\alpha$  と M-CSF の存在下で破骨細胞前駆細胞を象牙切片上で培養すると、破骨細胞は誘導されたが吸

収窩は形成されなかった. IL-1を同時に添加したときのみ象牙切片上に吸収窩が形成された<sup>51)</sup>.

以上の知見より, マウス TNF- $\alpha$  は破骨細胞の分化を促進するが破骨細胞の活性化は誘導しないこと, 一方, IL-1 は破骨細胞の分化を促進しないが破骨細胞の骨吸収能を誘導することが示された(図5). さらに最近, TNF- $\alpha$  が誘導する破骨細胞形成を少量の RANKL が強く促進することも報告され, 骨吸収に関与するサイトカイン間のクロストークの存在が示唆された<sup>53)</sup>.

最近, 生体に強力な炎症を誘起するグラム陰性菌の細菌壁成分リポ多糖(LPS)の受容体が Toll-like-receptor 4 (TLR4)であることが示された<sup>54)</sup>. TLR はファミリーを形成しており, 現在 TLR 1~TLR 9 まで知られている. 興味深いことは, TLR の細胞内ドメインは IL-1 受容体と類似しておりシグナル伝達因子として MyD 88, IRAK, TRAF 6 を介する<sup>54)</sup>. LPS は成熟破骨細胞に直接作用し, 破骨細胞の延命や吸収窩形成能を誘導する<sup>55)</sup>. これらの反応は TLR 4 遺伝子に異常が認められる C3 HeJ マウス由来の細胞ではおこらないことから, TLR 4 を介するシグナルが深くかかわっていることが推察されている. このように, LPS は IL-1 の作用と類似した作用を有しており, 炎症性骨吸収に関与するものと考えられる(図5).

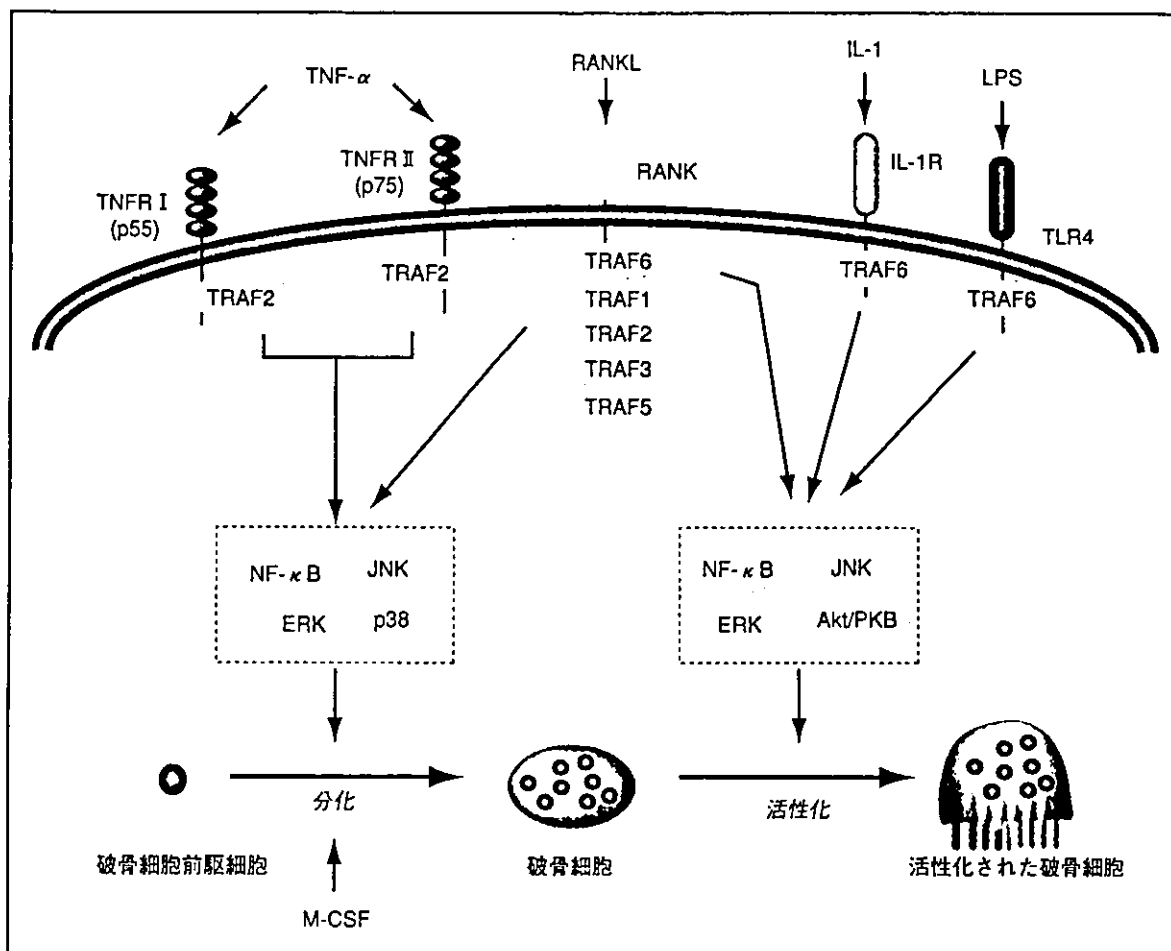


図5 破骨細胞の分化と機能を調節する TNF- $\alpha$ , RANKL, IL-1 および LPS の作用とシグナル伝達系  
破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化を TNF- $\alpha$  あるいは RANKL が促進する. 一方, RANKL, IL-1 および LPS は破骨細胞の骨吸収機能を誘導する. おのおのの過程は TRAF を介して調節されることが考えられている.

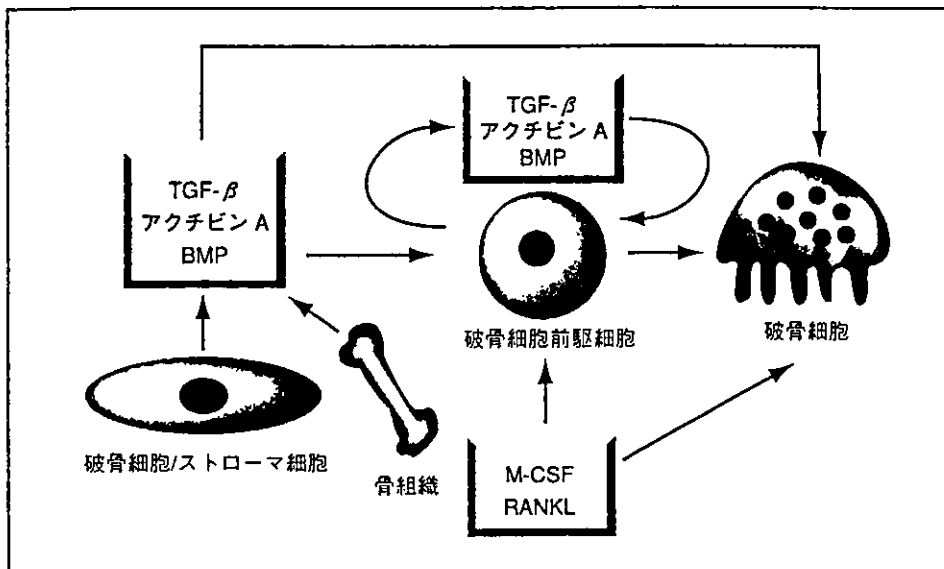


図6 破骨細胞の分化と機能を調節するTGF-βスーパーファミリーサイトカインの作用

TGF-βスーパーファミリーに属するTGF-β、アクチビンAおよびBMPは、破骨細胞前駆細胞や破骨細胞に直接作用してRANKLの作用を増強させる。RANKを介するシグナル伝達にTGF-βやBMPのシグナルがクロストークしている可能性が示唆される。

## 7 TGF-βスーパーファミリーサイトカインの骨吸収促進作用

transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )スーパーファミリーに属するTGF- $\beta$ 、アクチビンAおよび骨誘導因子(bone morphogenetic protein; BMP)は骨基質中にも多量に存在するサイトカインである。また、破骨細胞前駆細胞であるマクロファージ自身もTGF- $\beta$ やBMPを産生する。さらに、TGF- $\beta$ の受容体は骨芽細胞のみならず造血細胞も発現する。TGF- $\beta$ 1、アクチビンA、BMP-2は、マウスの骨髄細胞由来マクロファージの培養系でRANKLによって誘導される破骨細胞の分化を強力に促進した<sup>56)-59)</sup>。しかし、TGF- $\beta$ スーパーファミリーサイトカイン単独では破骨細胞の形成を促進しない。RANKLとTGF- $\beta$ スーパーファミリーサイトカインによる破骨細胞形成の相乗作用はOPGの添加によって完全に抑制される。

以上の結果より、TGF- $\beta$ スーパーファミリーに属するサイトカインは破骨細胞前駆細胞に直接作用してRANKLの作用を増強させるものと考えられる。また、その効果が抗TGF- $\beta$ 抗体や可溶性BMP受容体によっても抑制されたことから、RANKが介するシグナル伝達にTGF- $\beta$ やBMPのシグナルもクロストークしている可能性が示される(図6)。

### と語

1997年のOPGの発見とそれに続くRANKLの発見により、マウスの破骨細胞の形成を調節する骨芽細胞の役割を分子レベルで説明できるようになった。さらに、炎症性サイトカインで



ある IL-1 や TNF- $\alpha$  が RANKL/RANK 系を介さずに破骨細胞の分化や機能を誘導することが示された。これらの知見は、破骨細胞の分化と機能の調節に TRAF を介するシグナル系が重要であることを物語っている。さらに、TRAF 6 欠損マウスの所見から、TRAF 6 が大理石骨病を発症するという知見は、TRAF 6 が破骨細胞の分化と機能に中心的な役割を有する可能性を示している。さらに、TGF- $\beta$  や BMP のシグナル系と RANK を介するシグナル系の間でクロストークの可能性も指摘される。TNF 受容体ファミリーと TGF- $\beta$  受容体ファミリーのシグナル伝達機構の解明は急速に進んでいるため、破骨細胞の分化と機能を調節するシグナルの解明も近いと期待される。

## References

- 1) Takahashi, N., Akatsu, T., Udagawa, N. et al.: Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology* 123: 2600-2602, 1988
- 2) Suda, T., Takahashi, N., Martin, T. J.: Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr. Rev.* 13: 66-80, 1992
- 3) Takeda, S., Yoshizawa, T., Nagai, Y. et al.: Stimulation of osteoclast formation by 1,25-dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology* 140: 1005-1008, 1999
- 4) Liu, B. Y., Guo, J., Lanske, B. et al.: Conditionally immortalized murine bone marrow stromal cells mediate parathyroid hormone-dependent osteoclastogenesis *in vitro*. *Endocrinology* 139: 1952-1964, 1998
- 5) Sakuma, Y., Tanaka, K., Suda, M. et al.: Crucial involvement of the EP 4 subtype of prostaglandin E receptor in osteoclast formation by proinflammatory cytokines and lipopolysaccharide. *J. Bone Miner. Res.* 15: 218-227, 2000
- 6) Udagawa, N., Takahashi, N., Katagiri, T. et al.: Interleukin (IL)-6 induction of osteoclast differentiation depends on IL-6 receptors expressed on osteoblastic cells but not on osteoclast progenitors. *J. Exp. Med.* 182: 1461-1468, 1995
- 7) Suda, T., Udagawa, N., Takahashi, N.: Osteoclast generation, in Principles of Bone Biology. (Raisz L. G., Rodan, G A., Bilezikian, J. P. eds.) Academic Press, San Diego, 1996, p.87-102
- 8) Jimi, E., Nakamura, I., Amano, H. et al.: Osteoclast function is activated by osteoblastic cells through a mechanism involving cell-to-cell. *Endocrinology* 137: 2187-2190, 1996
- 9) Udagawa, N., Takahashi, N., Akatsu, T. et al.: Origin of osteoclasts: mature monocytes and macrophages are capable of differentiating into osteoclasts under a suitable microenvironment prepared by bone marrow-derived stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 7260-7264, 1990
- 10) Fujikawa, Y., Quinn, J. M., Sabokbar, A. et al.: The human osteoclast precursor circulates in the monocyte fraction. *Endocrinology* 137: 4058-4060, 1996
- 11) Matsuzaki, K., Katayama, K., Takahashi, Y. et al.: Human osteoclast-like cells are formed from peripheral blood mononuclear cells in a co-culture with SaOS-2 cells transfected with the PTH/PTHrP receptor gene. *Endocrinology* 140: 925-932, 1999
- 12) Takahashi, N., Udagawa, N., Tanaka, S. et al.: Postmitotic osteoclast precursors are mononuclear cells which express macrophage-associated phenotypes. *Dev. Biol.* 163: 212-221, 1994
- 13) Hsu, H., Lacey, D. L., Dunstan, C. R. et al.: Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 3540-3545, 1999

- 14) Miyamoto, A., Kunisada, T., Hemmi, H. et al.: Establishment and characterization of an immortal macrophage-like cell line inducible to differentiate to osteoclasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 242: 703-709, 1998
- 15) Takahashi, N., Udagawa, N., Akatsu, T. et al.: Role of colony stimulating factors in osteoclast development. *J. Bone Miner. Res.* 6: 977-985, 1991
- 16) Yoshida, H., Hayashi, S., Kunisada, T. et al.: The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony stimulating factor gene. *Nature* 345: 442-444, 1990
- 17) Felix, R., Cecchini, M. G., and Fleisch, H.: Macrophage colony stimulating factor restores *in vivo* bone resorption in the *op/op* osteopetrotic mouse. *Endocrinology* 127: 2592-2594, 1990.
- 18) Kodama, H., Yamasaki, A., Nose, M. et al.: Congenital osteoclast deficiency in osteopetrotic (*op/op*) mice is cured by injections of macrophage colony-stimulating factor. *J. Exp. Med.* 173: 269-272, 1991
- 19) Tanaka, S., Takahashi, N., Udagawa, N. et al.: Macrophage colony-stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J. Clin. Invest.* 91: 257-263, 1993
- 20) Niida, S., Kaku, M., Amano, H. et al.: Vascular endothelial growth factor can substitute for macrophage colony-stimulating factor in the support of osteoclastic bone resorption. *J. Exp. Med.* 190: 293-298, 1999
- 21) Itoh, K., Udagawa, N., Matsuzaki, K. et al.: Importance of membrane- or matrix-associated forms of M-CSF and RANKL/ODF in osteoclastogenesis supported by SaOS-4/3 cells expressing recombinant PTH/PTHrP receptors. *J. Bone Miner. Res.* 15: 1766-1775, 2000
- 22) Simonet, W. S., Lacey, D. L., Dunstan, C. R. et al.: Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89: 309-319, 1997
- 23) Tsuda, E., Goto, M., Mochizuki, S. et al.: Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 234: 137-142, 1997
- 24) Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N. et al.: Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 3597-3602, 1998
- 25) Lacey, D. L., Timms, E., Tan, H. et al.: Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93: 165-176, 1998
- 26) Wong, B. R., Rho, J., Arron, J. et al.: TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J. Biol. Chem.* 272: 25190-25194, 1997
- 27) Anderson, D. M., Maraskovsky, E., Billingsley, W. L. et al.: A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 390: 175-179, 1997
- 28) The American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature: Proposed standard nomenclature for new tumor necrosis factor family members involved in the regulation of bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 15: 2293-2296, 2000
- 29) Takahashi, N., Udagawa, N., Suda T.: A new member of TNF ligand family, ODF/RANKL/ TRANCE/OPGL, regulates osteoclast differentiation and function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 256: 449-455, 1999
- 30) Kong, Y. Y., Yoshida, H., Sarosi, I. et al.: OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 397: 315-323, 1999
- 31) Dougall, W. C., Glaccum, M., Charrier, K. et al.: RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev.* 13: 2412-2424, 1999
- 32) Li, J., Sarosi, I., Yan, X. et al.: RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 1566-1571, 2000
- 33) Hughes, A. E., Ralston, S. H., Marken, J. et al.: Mutations in TNFRSF 11 A, affecting the signal

- peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat. Genet.* 24: 45-48, 2000
- 34) Jimi, E., Akiyama, S., Tsurukai, T. et al.: Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *J. Immunol.* 163: 434-442, 1999
- 35) Fuller, K., Wong, B., Fox, S. et al.: TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J. Exp. Med.* 188: 997-1001, 1998
- 36) Takami, M., Takahashi, N., Udagawa, N. et al.: Intracellular calcium and protein kinase C mediate expression of receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin in osteoblasts. *Endocrinology* 141: 4711-4719, 2000
- 37) Kong, Y. Y., Feige, U., Sarosi, I. et al.: Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 402: 304-309, 1999
- 38) Ronaghy, A., Prakken, B.J., Takabayashi, K. et al.: Immunostimulatory DNA sequences influence the course of adjuvant arthritis. *J. Immunol.* 168: 51-56, 2002
- 39) Darnay, B. G., Haridas, V., Ni, J. et al.: Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF- $\kappa$ B and c-Jun N-terminal kinase. *J. Biol. Chem.* 273: 20551-20555, 1998
- 40) Darnay, B. G., Ni, J., Moore, P. A. et al.: Activation of NF- $\kappa$ B by RANK requires tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)6 and NF- $\kappa$ B-inducing kinase. Identification of a novel TRAF6 interaction motif. *J. Biol. Chem.* 274: 7724-7731, 1999
- 41) Galibert, L., Tometsko, M. E., Anderson, D. M. et al.: The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factors in the signaling mechanisms of receptor activator of NF- $\kappa$ B, a member of the TNFR superfamily. *J. Biol. Chem.* 273: 34120-34127, 1998
- 40) Kim, H. H., Lee, D. E., Shin, J. N. et al.: Receptor activator of NF- $\kappa$ B recruits multiple TRAF family adaptors and activates c-Jun N-terminal kinase. *FEBS Lett.* 443: 297-302, 1999
- 42) Wong, B. R., Josien, R., Lee, S. Y. et al.: The TRAF family of signal transducers mediates NF- $\kappa$ B activation by the TRANCE receptor. *J. Biol. Chem.* 273: 28355-28359, 1998
- 43) Lomaga, M. A., Yeh, W. C., Sarosi, I. et al.: TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling. *Genes Dev.* 13: 1015-1024, 1999
- 44) Naito, A., Azuma, S., Tanaka, S. et al.: Severe osteopetrosis, defective interleukin-1 signalling and lymph node organogenesis in TRAF6-deficient mice. *Genes Cells* 4: 353-362, 1999
- 45) Kobayashi, N., Kadono, Y., Naito, A. et al.: Segregation of TRAF6-mediated signaling pathways clarifies its role in osteoclastogenesis. *EMBO J.* 20: 1271-1280, 2001
- 46) Wong, B. R., Besser, D., Kim, N. et al.: TRANCE, a TNF family member, activates Akt/PKB through a signaling complex involving TRAF6 and c-Src. *Mol. Cell* 4: 1041-1049, 1999
- 47) Kotake, S., Udagawa, N., Hakoda, M. et al.: Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 44: 1003-1012, 2001
- 48) Teng, Y. T., Nguyen, H., Gao, X. et al.: Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J. Clin. Invest.* 106: R59-R67, 2000
- 49) Takayanagi, H., Ogasawara, K., Hida, S. et al.: T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signaling cross-talk between RANKL and IFN- $\gamma$ . *Nature* 408: 600-605, 2000
- 50) Jimi, E., Nakamura, I., Duong, L. T. et al.: Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells. *Exp. Cell Res.* 247: 84-93, 1999
- 51) Kobayashi, K., Takahashi, N., Jimi, E. et al.: Tumor necrosis factor  $\alpha$  stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *J. Exp. Med.* 191: 275-286, 2000
- 52) Azuma, Y., Kaji, K., Katogi, R. et al.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. *J. Biol. Chem.* 275: 4858-4864, 2000

- 53) Lam, J., Takeshita, S., Barker, J. E. et al.: TNF- $\alpha$  induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J. Clin. Invest.* 106: 1481-1488, 2000
- 54) Takeda, K., Akira, S.: Roles of Toll-like receptors in innate immune responses. *Genes Cells* 9: 733-742, 2000
- 55) Suda, K., Woo, J. T., Takami, M. et al.: Lipopolysaccharide supports survival and fusion of preosteoclasts independent of TNF- $\alpha$ , IL-1, and RANKL. *J. Cell Physiol.* 190: 101-107, 2002
- 56) Sells Galvin, R. J., Gatlin, C. L., Horn, J. W. et al.: TGF- $\alpha$  enhances osteoclast differentiation in hematopoietic cell cultures stimulated with RANKL and M-CSF. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 265: 233-239, 1999
- 57) Fuller, K., Lean, J. M., Bayley, K. E. et al.: A role for TGF $\beta$ (1) in osteoclast differentiation and survival [In Process Citation]. *J. Cell Sci.* 113: 2445-2453, 2000
- 58) Itoh, K., Udagawa, N., Katagiri, T. et al.: Bone morphogenetic protein 2 stimulates osteoclast differentiation and survival supported by receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand. *Endocrinology* 142: 3656-3662, 2001
- 59) Quinn, J. M., Itoh, K., Udagawa, N. et al.: Transforming growth factor  $\beta$  effects on osteoclast differentiation via direct and indirect actions. *J. Bone Miner. Res.* 16: 1787-1794, 2001