

【目的】 体内のカルシウムイオンは主に副甲状腺ホルモン (PTH)、ビタミン D、カルシトニンによって調節されている。PTH の受容体として PTH1 受容体および PTH2 受容体が知られているが、PTH2 受容体については過去にあまり研究がされていない。カルシウムシグナルは免疫細胞の分化や炎症反応に重要な役割を持つことが知られており、今回私たちは PTH2 受容体欠損マウス (*Pth2r^{-/-}*) とその同腹仔の野生型マウス (*Pth2r^{+/+}*) を用いてその評価を行う。

【方法】 成熟した雌 *Pth2r^{+/+}* および *Pth2r^{-/-}* 脾臓から得られた免疫細胞分画を FACS で解析した。また骨髄細胞から M-CSF もしくは GM-CSF でマクロファージを誘導し、その食食能を phagocytosis assay で測定した。さらに TLR リガンドや inflammasome リガンドで刺激し炎症性サイトカインやインターフェロン関連遺伝子群を qRT-PCR にて定量した。最後に低カルシウム状態の体から得た免疫細胞の活性能をみるため *Pth2r^{-/-}* に低カルシウム食、低ビタミン D 食を 3 週間ずつ負荷し、その大腿骨の骨密度・ミネラル成分の測定と骨髄由来マクロファージを TLR4 リガンドの LPS および IFI16 リガンドの HSV60 で刺激しマイクロアレイ解析を行った。

【結果】 FACS では非感染の *Pth2r^{-/-}* 脾臓で CD4⁺T^{bet}⁺ の Th1 リンパ球が減少している傾向があったものの他の免疫細胞分画に大きな変化は見られなかった。マウス的大腿骨から得た骨髄細胞に M-CSF もしくは GM-CSF を添加してマクロファージを誘導し phagocytosis assay を行ったところ GM-CSF 誘導マクロファージ (GMM) で 40 時間後の食食能の低下がみられた。*Pth2r^{+/+}* GMM と *Pth2r^{-/-}* GMM を複数の TLR リガンドで刺激して 3 時間後に炎症マーカーである *Nos2* の発現を比較してみると *Pth2r^{-/-}* GMM では TLR4 リガンド (LPS) で刺激した際に発現が低下していた。次に 3 時間 LPS で刺激した後に複数の inflammasome リガンドを投与し合計 24 時間後に遺伝子の発現を確認すると IFI16 リガンド (HSV60) で刺激した際に *Ifnb1* の発現が低下した。最後に *Pth2r^{+/+}* と *Pth2r^{-/-}* に低カルシウム食と低ビタミン D 食を 3 週間ずつ負荷した後に大腿骨を解析すると *Pth2r^{-/-}* では骨密度と骨塩量が有意に低いことがわかった。同様の低カルシウム・低ビタミン D 食を負荷した *Pth2r^{+/+}* と *Pth2r^{-/-}* 由来 GMM に TLR4 もしくは IFI16 リガンドを投与してマイクロアレイで網羅的に遺伝子変動を解析し 2 群間 (*Pth2r^{+/+}* vs *Pth2r^{-/-}*) で比較したところ、通常食より低カルシウム・低ビタミン D 食を負荷した方が *Pth2r^{-/-}* GMM で有意に発現が低い遺伝子 (*Z*-score ≤ -2.0, ratio ≤ 0.66) が増加した。さらにそれらの *Pth2r^{-/-}* GMM で低発現であった遺伝子の GO 解析を行うと、免疫反応 (immune response)、走化性 (chemotaxis)、炎症反応 (inflammatory response) などに関連する遺伝子群が大きく変動しており、特に好中球走化性に関わるケモカイン遺伝子の発現が多く減弱していることがわかった。最後に単純ヘルペスウイルス 1 型を B6 系統の *Pth2r^{+/+}* および *Pth2r^{-/-}* の皮下に感染させると皮膚症状は出ないものの *Pth2r^{-/-}* 脾臓では Ly6G⁺ の好中球が減少している傾向があった。

これらの結果を総合すると PTH2 受容体シグナルは体内カルシウムの恒常性に影響を及ぼし自然免疫細胞が引き起こす免疫反応や走化性に関与することが予測された。

PTH2 受容体欠損マウス骨髄由来 GM-CSF 誘導マクロファージは食食能や免疫反応が低下しており
低カルシウム・低ビタミン D3 食の負荷はさらにその傾向に拍車をかける

