

審査の結果の要旨

氏名 宮崎 剛

本研究は、破骨細胞の機能発現における古典的MAPキナーゼおよびNF- κ Bの役割を明らかにするため、アデノウイルスベクターによる外来遺伝子導入系を用いて破骨細胞の延命・骨吸収機能の解析を行い、下記の結果を得ている。

破骨細胞の生存・骨吸収機能活性化におけるmitogen-activated protein kinase (MAPK)とnuclear factor kappa B (NF- κ B)伝達経路の役割を検討するために、様々なミュータント型シグナル伝達分子（ドミナントネガティブ型Ras [Ras^{DN}]、恒常的活性型MAPK/ERK kinase 1 [MEK^{CA}]、ドミナントネガティブ型I κ B kinase 2 [IKK^{DN}]、恒常的活性型IKK2 [IKK^{CA}])を組み込んだアデノウイルスを作成した。

1. 組換えアデノウイルスは、破骨細胞に効率よくそれぞれの遺伝子の発現を誘導した。
2. 破骨細胞においてはERKの恒常的な活性化が認められるが、MEK^{CA}ウイルスはこれをさらに増強した。共存培養において形成された破骨細胞は、共存する骨芽細胞を酵素処理で除くと速やかに核の凝集・DNAの断片化をおこし、18時間後には約70%の細胞がアポトーシスによって死滅するが、MEK^{CA}の発現はこの細胞死を著明に抑制し、ほぼ100%の細胞が72時間後にも生存していた。またRas^{DN}の発現はERKの活性化を抑制するとともに破骨細胞のアポトーシスを促進し、18時間後には100%の破骨細胞が死滅していた。
3. Ras^{DN}あるいはMEK^{CA}ウイルスは破骨細胞の生存に大きな影響を与えるにもかかわらず、破骨細胞の骨吸収能に影響を与えなかった。これら結果より、Ras/ERK経路が骨吸

収を制御するシグナルではなく、破骨細胞の延命において重要な役割を果たしていることが示唆された。

4. IKK^{DN}ウイルスは破骨細胞においてIL-1刺激で起こるNF-κBの核移行を抑制し、逆にIKK^{CA}ウイルスでは、NF-κBの恒常的な活性化がみられた。

5. IKK^{DN}あるいはIKK^{CA}を発現させても破骨細胞の生存に影響はなく、逆に骨吸収機能がIKK^{DN}で低下、IKK^{CA}で上昇した。また、IL-1による破骨細胞の骨吸収の上昇もIKK^{DN}の発現により有意に抑制された。これらの結果より、NF-κB経路が破骨細胞の延命ではなく、骨吸収を制御するシグナルに関与していることが示唆された。

以上、本論文は破骨細胞の活性化において、ERK経路が破骨細胞の延命を、そしてNF-κBが骨吸収機能の上昇を制御していることを明らかにした。これまで"破骨細胞の活性化"を"サバイバルの延長"と"骨吸収活性の上昇"とに分離して解析するという概念はなかった。しかし、本研究により、ERKとNF-κBは破骨細胞の活性化において異なる役割を果たしていることが示唆された。本研究は、これまで困難とされていた破骨細胞への遺伝子導入をアデノウイルスベクターを用いて確立し、破骨細胞内のシグナル伝達経路と機能発現の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。