

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 須澤美幸

人が生体の恒常性を維持するメカニズムが細胞にプログラミングされている。このプログラムが崩れると疾患に結びつく原因になる。これを未然に防ぐために、どの様にプログラムされているか理解することが重要であると考えられる。

本研究は支持組織 "骨" に着目しその骨形成に関わる骨芽細胞またその起源である骨髄間葉系細胞を材料に骨芽細胞分化、また同種細胞から分化する脂肪細胞の分化制御及び骨芽細胞分化との関連に着目し、骨芽細胞分化の分子機序解明を試みたものである。

まず第 1 章において骨芽細胞自身が産生する内因性 BMP-2/4 の骨芽細胞分化に及ぼす役割とその重要性について検討した。その結果、MC3T3-E1 細胞で BMP-2/4、BMPR-IA、BMPR-II の発現が認められ、アスコルビン酸、培養日数（細胞の分化状態）等の条件で発現に差は認められなかった。また BMP-2/4 は細胞外基質(ECM)に局在していた。BMP I 型レセプターの細胞内キナーゼ領域を恒常的に欠失した MC3T3-E1 細胞(Δ BMPR-IA)をクローニングし、BMP-2/4 のシグナルを遮断すると骨芽細胞へ分化しなくなった。以上の検討から、骨芽細胞分化において BMP-2/4 のシグナルは必須であり、更に BMP-2/4 が ECM に蓄積することが骨芽細胞分化において重要であることを明らかにした。今回初めて内因性骨芽細胞分化における BMP-2/4 の重要性を報告し、更に ECM の実験を取り入れることにより BMP-2/4 の経路だけでなく、ECM の存在も必要でありどちらの存在も骨芽細胞分化において必要であることを証明した。

第 2 章では骨芽細胞により産生される I 型コラーゲンと、細胞接着因子 $\alpha 2 \beta 1$ インテグリンとの結合により活性化される focal adhesion kinase (FAK)と BMP-2/4 シグナルとのクロストークについて実験を行った。その結果、MC3T3-E1 細胞における骨芽細胞分化において、コラーゲン-インテグリンによる持続的な MAP kinase の活性化が必要であること事を明らかにした。Smad1 の転写活性化に対し Ras は転写活性化を増強した。以上の検討から、Smad1 と MAP kinase にはポジティブなクロストークがあることを見出した。

第3章では骨髄脂肪細胞分化において負のレギュレーターである TGF β 、IL-1、TNF α シグナルが、脂肪細胞分化促進因子である PPAR γ の転写制御機構に及ぼす影響について検討した。その結果、IL-1、TNF α 、TGF β は脂肪細胞分化を抑制し、更にこの時骨芽細胞分化が促進される事が明らかになった。TGF β による PPAR γ の転写抑制機序は不明である。IL-1、TNF α による PPAR γ の転写抑制は、TAK1/TAB1、NIK、NF- κ B を介するものであり、その抑制機序は PPAR γ の DNA 結合を NF- κ B が阻害することにあることを解明した。更に PPAR γ により転写制御を受ける CAP 遺伝子発現も IL-1、TNF α によって抑制された。以上の検討から、脂肪細胞分化における IL-1、TNF α による抑制のメカニズム、骨芽細胞における分化促進機序の一端を解明できた。

本実験において骨髄間葉系幹細胞からの骨芽細胞、脂肪細胞の分化促進・抑制の分子機序の一端をを解明することができた。従来より解析が困難であった骨細胞種群の増殖、分化の分子機序は、他の器官を構成する細胞種群同様、精密かつ厳密な制御を受けている事を分子レベルで明らかにすることができた。しかしながら骨髄中では、骨芽細胞に加え、破骨細胞、筋芽細胞、軟骨細胞など様々な細胞の分化が制御されており、今回得られた知見を基に、更に詳細な骨細胞種の分化制御機構が明らかになるものと期待される。以上の本研究は学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値のあるものと認めた。