

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 川野 健一

本研究は、老化性の骨粗鬆化の分子生物学的メカニズムを解明することを目的として、ノックアウトマウスの解析結果より、老化性の骨粗鬆症に関与している可能性のある *klotho* および PPAR γ 遺伝子多型の閉経後女性骨密度への関与を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. まず、ヒト *klotho* 遺伝子の蛋白翻訳領域における 1 塩基多型 (single nucleotide polymorphism 以下 SNP と略す) を、白色人種および日本人女性の DNA で検索した。白人女性で 8 つ、日本人女性で 6 つの SNP を検出した。同定された全 11 個の SNP のうち、3 つは両人種に共通であった。3 つのうち 1 つはプロモーター領域 (G-395A) に、2 つはエクソン 4 (C1818T と C2298T) に位置していた。エクソン 4 の SNP はアミノ酸の置換を伴わない多型であった。
2. 次にこの両人種に共通の 3 つの SNP について骨密度との関連を検討した。白人女性 1187 名全体では各 SNP と骨密度との間に有意な相関は見られなかったが、白人女性のうち閉経後群 (364 名) では C1818T SNP と骨密度に有意な相関が見られ、マイナーアレルである T をもつ群がメジャーアレルである C をもつ群に比べ骨密度が低いという結果であった ($P=0.029$)。また、65 歳以上の高齢者群では、C1818T ($P=0.010$) のみならず G-395A ($P=0.001$) も骨密度との相関を示した。以上の結果は年齢、体重で BMD を補正した値である Z スコアを用いても同様であった。G-395A SNP と C1818T SNP のハプロタイプによる解析では閉経後女性およびその最高年齢層においてマイナーアレルはより低い骨密度を呈する結果となっ

た。日本人の閉経後女性についても同様の解析を行ったところ、この集団においても G-395A と C1818T では骨密度との有意な相関が見られた ($P=0.023$, 0.035)。またこれらの結果は Z スコアを用いた解析でも変わらず、2つの SNP を組み合わせたハプロタイプの解析でも P 値が 0.009 と有意な相関を示した。以上の結果より、ヒト *klotho* 遺伝子の多型は人種をこえて高齢女性の骨密度に関与していることが示された。

3. 閉経後女性の骨密度に関連のあった SNP の機能について検討した。Electrophoretic mobility shift assay の結果、プロモーター領域の SNP (G-395A) は 293 細胞においてタンパクと DNA の結合能に影響を与えていることがわかった。但し、luciferase assay の結果では G と A の違いで *klotho* 遺伝子の転写活性に有意な差はでなかった。また、ヒトの腎臓のサンプルを用い、C1818T SNP による mRNA の splicing variant の有無を調べたが明らかな変異は認めなかった。
4. ヒト PPAR γ 遺伝子の翻訳領域における SNP の検索を行った。その結果、エクソン B、エクソン 5、エクソン 6 内に一カ所ずつ点変異を見出した。エクソン B 内の SNP はアミノ酸の置換を伴うものであったが、他の 2 カ所はアミノ酸の置換を伴わなかった。
5. これらの SNP と日本人閉経後女性の骨密度との関連を検討した。しかし、各 SNP と骨密度との間に明らかな相関は見られなかった。Z スコアを用いた解析、ハプロタイプの解析でも有意な差はなかった。この結果より、PPAR γ 遺伝子多型の骨密度への寄与度は比較的小さいものと考えられた。

以上、本論文は、加齢による骨量減少の病態生理に *klotho* 遺伝子が関与している可能性を示した。本研究は、老化性の骨粗鬆化の分子生物学的メカニズム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。