

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 藤 田 雅 代

本研究は、女性ホルモンの一種であるエストロゲンが、エストロゲン受容体 (estrogen receptor; ER)を介して、どのような機構で骨に対して作用しているかについての解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ER の作用を転写レベルで阻害するドミナントネガティブ ER(dnER)を過剰発現させた dnER トランスジェニックラットを作製し(Ogawa, Fujita et al, J. Biol. Chem. 2000, 275:21372-9)、このラットをモデル動物として雄における骨密度へのエストロゲン作用が ER を介した機構によるのか、検討を行った。その結果、エストロゲン過剰投与による骨密度の増加作用は、ER を介した経路によって発揮されることが示された。
2. 雄 dnER トランスジェニックラットを用いた検討から、エストロゲン投与による骨の長軸方向への成長阻害が、ER を介した経路によって及ぼされることが示された。
3. dnER トランスジェニックラットは骨において ER のシグナルが抑制されているよいモデル動物であることを利用し、初代培養骨芽細胞に着目し、ER 作用経路を抑制した場合の反応を検討したところ、dnER トランスジェニックラット由来初代培養骨芽細胞の増殖は、野生ラット由来初代培養骨芽細胞にくらべ、有意に低下することを示した。増殖が低下するメカニズムを解明するため、dnER トランスジェニックラット由来初代培養骨芽細胞と野生ラット由来初代培養骨芽細胞では遺伝子レベルどのような変化が起きているのか、マイクロアレイ法を用いて解析した結果、細胞周期制御因子の一つで、G1 期の初期から中期にかけてはたらくサイクリン D2 の発現が、転写レベルにおいて減少していることが示された。
4. ER 作用経路が抑制された場合、初代培養骨芽細胞の増殖が低下し、サイ

クリン D2 の発現レベルが減少することから、エストロゲンが作用した場合には、初代培養骨芽細胞の増殖が誘導されるのか、またサイクリン D2 の発現が誘導されるのか解析を行った。結果、初代培養骨芽細胞において、エストロゲン添加により細胞増殖およびサイクリン D2 の発現が誘導されることが示された。

5. エストロゲンによって他の G1 サイクリンの発現が誘導されるか検討したところ、サイクリン D3 もまた発現誘導されることが示された。ER ピュアアンタゴニストである ICI182,780 を添加するとエストロゲンによるサイクリン D2、サイクリン D3 の発現誘導が抑制されることから、サイクリン D2、サイクリン D3 の誘導は ER を介した経路によって起こることが示された。
6. エストロゲンにより、サイクリン D2、サイクリン D3 が発現誘導されるに伴い、サイクリン D2-サイクリン依存性キナーゼ(Cdk)4/6、サイクリン D3-Cdk4/6 の複合体の形成が促進されることが示された。キナーゼアッセイを行い解析したところ、エストロゲン添加によりサイクリン D2-Cdk4/6、サイクリン D3-Cdk4/6 のキナーゼ活性が上昇することが示された。

以上、本論文は、dnER トランスジェニックラットをモデル動物として用いた検討から、雄におけるエストロゲンの骨に対する作用は ER を介することを示した。また、サイクリン D2、サイクリン D3 はエストロゲン-ER を介した初代培養骨芽細胞増殖促進作用における標的因子であることを示唆した。本研究は、未だ不明な点が多いエストロゲン-ER を介した骨における作用機構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。