

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 緒方 直史

本研究は、 $G\alpha_q$ タンパク質を介するシグナルの骨代謝における機能を明らかにするため、恒常活性型 $G\alpha_q$ (CA- $G\alpha_q$) を強制発現させた骨芽細胞を用いて分化への影響を検討した。その後 CA- $G\alpha_q$ を骨芽細胞特異的に強制発現させた遺伝子操作マウス ($G\alpha_q$ -Tg マウス) を用いて表現型の解析を行い、そのマウスより取り出した細胞培養を用いた実験を行い、下記の結果を得ている。

1. 培養骨芽細胞における $G\alpha_q$ シグナルの機能解析

恒常的に活性作用を持つ CA- $G\alpha_q$ を作製し、CA- $G\alpha_q$ を安定強制発現する MC3T3-E1 細胞株を樹立した。CA- $G\alpha_q$ を安定発現する骨芽細胞では増殖能に異常は見られなかったが、ALP 活性が有意に低下しており、骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現もコントロールと比べて明らかに低下しており、恒常的な $G\alpha_q$ シグナルにより骨芽細胞の分化能が抑制されていることが解明された。

2. 骨芽細胞特異的に CA- $G\alpha_q$ 遺伝子を強制発現させたトランスジェニックマウスの作成およびその骨組織の解析

骨芽細胞特異的に CA- $G\alpha_q$ 遺伝子を発現させたトランスジェニックマウス ($G\alpha_q$ -Tg マウス) を作成し、その骨組織の表現型を解析した。 $G\alpha_q$ -Tg マウス

は生後2週目以降成長障害が認められ、一部のG α q-Tgマウスにおいて長官骨の骨折が認められた。8週齢のTgマウスは著しい骨粗鬆化を呈し、G α q-Tgマウスの脛骨骨密度はワイルドタイプマウスと比較して約35%低下していた。組織学的にも海綿骨の骨梁構造が低下しており、皮質骨でも菲薄化が認められた。形態計測上からも骨芽細胞機能の低下により骨量減少を呈することが明らかとなった。一方、TUNEL法によるアポトーシスの検討では、G α q-Tgマウスの骨芽細胞において明らかなアポトーシスの亢進が認められた。

3. 初代培養系における骨芽細胞の分化増殖に関する解析

細胞培養系の解析では、G α qシグナルを恒常的に活性させると骨芽細胞の分化が抑制され、そのシグナルの下流にあるPKCインヒビターを用いることでその抑制が除かれたことから、G α qシグナルには骨芽細胞の分化抑制作用があることが明らかとなった。

以上、本論文は骨代謝におけるG α qタンパクを介したシグナルに、骨芽細胞分化抑制作用があることを細胞培養実験および動物モデルを用いて明らかにしたものである。本研究は、これまでに報告の少ないG α qシグナルの骨代謝への作用を詳細に検討しており、特にそのシグナルが骨芽細胞分化抑制作用を有することを初めて報告したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。