

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 古賀 貴子

骨組織は、運動機能といった高等動物における高次機能を維持するために必須の組織であり、人間らしい生活を営むためには重要な要素である。このような骨組織は骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収のバランスによってその機能と恒常性を維持されており、破骨細胞による異常な骨吸収は関節症や骨粗鬆症などの骨破壊性疾患を引き起こす。特に、高齢化社会においては、関節症や骨粗鬆症などの運動器疾患による運動機能障害を防止することが世界的な課題となりつつあるが、骨破壊を効果的に予防する方法は未だ確立されていないのが現状である。

本論文は、骨破壊性疾患に対する薬剤や治療法の分子標的及び治療戦略を開発するために、破骨細胞分化メカニズムを分子レベルで理解することを目的として、破骨細胞分化因子(以下 RANKL)によって誘導される破骨細胞の分化に必須の転写因子 Nuclear factor of activated T cell c1 (以下 NFATc1)を同定し、さらに NFATc1 を誘導する新たな免疫受容体シグナルが RANKL の共刺激シグナルとして破骨細胞分化を誘導するという、破骨細胞分化メカニズムを解明したもので、3章から構成されている。

第一章では、研究の背景と破骨細胞の分化メカニズムの解明に関する現状を紹介し、本研究の意義と目的について述べている。

第二章では、RANKL によって特異的に破骨細胞に分化するために新たに誘導されるメカニズムを探る目的で、破骨細胞分化過程で特異的に誘導される遺伝子の網羅的解析を行い、最も強く誘導される転写因子 NFATc1 に着目し、その破骨細胞分化における意義を述べている。NFATc1 遺伝子を欠損する胚幹細胞は破骨細胞に分化できないことから、NFATc1 が単球系前駆細胞から破骨細胞に分化するのに必須の転写因子であることを明らかにした。さらに、RANKL によって活性化される新たな必須のシグナル経路として、カルシウムシグナル依存性に活性化されるカルシニューリン経路を同定した。NFATc1 の初期の誘導は破骨細胞分化に必須として知られる分子、TNF receptor-associated factors および c-Fos に依存し、誘導された NFATc1 は、カルシウム-カルシニューリン経路によって活性化されることで、自分自身のプロモータに結合してその mRNA を自己増幅させ、非常に高レベルの発現を維持し続けることを明らかにした。そして NFATc1 は tartrate-resistant acid phosphatase やカルシトニン受容体など破骨細胞特異的遺伝子のプロモータに直接作用してその転写活性を促進することを示した。さらに、NFATc1 のレトロウイルスによる強制発現は、高い効率で破骨細胞分化を誘導されることを明らかにし、NFATc1 が破骨細胞分化に必要なかつ十分

な転写因子であることを示した。

第三章では、第二章で同定した NFATc1 の転写活性に必須のカルシウムシグナルを活性化するメカニズムを解析することを目的として行った研究結果について述べている。免疫細胞のカルシウムシグナルの活性化には immunoreceptor tyrosine-based activation motif (以下 ITAM) をもつアダプタータンパクが重要であること、そして、ITAM 分子のひとつ、DNAX activating protein 12 (以下 DAP12) を欠損するマウスが骨吸収障害により大理石骨病を呈することを手がかりとして、破骨細胞分化における ITAM の役割を解析した。DAP12 遺伝子を欠損するマウスから採取した破骨細胞前駆細胞は、単独では破骨細胞への分化が完全に障害されていたが、骨芽細胞と共存することで分化は回復し、また、DAP12 欠損マウスの骨組織における破骨細胞数は正常であることを示した。この結果は、DAP12 の欠損を補う骨芽細胞による代償メカニズムの存在を示唆したため、破骨細胞前駆細胞において高発現している別の ITAM 分子、Fc receptor common γ subunit (以下 FcR γ) と DAP12 の両欠損(DKO)マウスを作成し、破骨細胞分化を検討した。DKO マウス由来の前駆細胞は、前駆細胞の単独による培養系、および、骨芽細胞との共存下での培養系のどちらにおいても破骨細胞分化が完全に障害され、DKO マウスの骨組織には破骨細胞がほとんど存在せず重篤な大理石骨病を呈した。続いて、破骨細胞前駆細胞において FcR γ 及び DAP12 に結合する免疫受容体として Osteoclast-associated receptor、paired immunoglobulin-like receptor A、及び triggering receptor expressed on myeloid cells 2、signal-regulatory protein β 1 等の免疫グロブリン様受容体を同定し、これらの免疫受容体を抗体により架橋刺激すると破骨細胞分化が促進することを明らかにした。さらに、FcR γ と DAP12 は RANKL 依存的にリン酸化され、Phospholipase C γ を介してカルシウムシグナルを活性化することで NFATc1 を誘導することを明らかにした。以上より、免疫受容体が DAP12 または FcR γ の ITAM を介して伝えるシグナルは、RANKL の共刺激シグナルとして破骨細胞分化に必須であることを解明した。

以上、本論文は、RANKL が特異的に破骨細胞へと分化を誘導するメカニズムとして新たな免疫受容体 - NFATc1 シグナルを解明し、これらが骨破壊性疾患に対する治療開発の分子標的として有望であることを示したもので、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あるものと認めた。