審査の結果の要旨

氏名　　河村　直洋

本研究は、骨形成作用を持つインスリン／IGF-I シグナルを細胞内で促進的に伝達する Akt の骨代謝調節における生理的な役割を解明し、その分子メカニズムを明らかにすることを目的とし、Akt1 ホモノックアウトマウスの解析を行い、さらに *in vitro* においてその機能の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

１．まず、骨組織を構成する骨芽細胞や破骨細胞では Akt1 の発現が最も優位であったことより、Akt1-/-マウスの骨格系に関する表現型を検討した結果、Akt1-/-マウスには明らかな骨格パターニングの異常はなかったが、単純 X 線写真、DEXA、CT などによる骨の放射線学的解析や組織学的解析により、海綿骨と皮質骨ともに骨量が減少していることがわかった。一方、成長板における軟骨分化は正常であった。さらに、骨組織形態計測により Akt1-/-マウスでは骨芽細胞数の減少とともに骨形成が低下していることがわかった。また脛骨組織切片の TUNEL 染色により Akt1-/-マウスでは骨芽細胞のアポトーシスが亢進していた。

２．Akt は多種の細胞において細胞の生存に深く関わっている分子として知られていることより、骨芽細胞の生存／アポトーシスにおける Akt1 の機能を in vitro の系で詳細に検討した。その結果、Akt1 シグナルは、転写因子 FoxO3a をリン酸化してその核内局在を阻害することにより、ミトコンドリア経路のアポトーシス促進因子である Bim の転写・発現を抑制することによって、アポトーシス抑制的に作用していることが明らかとなった。

また、Akt1-/-骨芽細胞では分化および石灰化が障害されていたので、骨芽細胞分化に必須の転写因子 Runx2 の作用に対して、Akt1 がどのように関与しているかについて、in vitro の系で検討した。その結果、Akt1 シグナルは間接的に Runx2 の DNA 結合を促進することにより、Runx2 を介する骨芽細胞分化と石灰化を促進する作用を持つことが示された。

３．最後に、骨吸収を担う破骨細胞の分化・生存における Akt1 の役割を検討したところ、破骨細胞前駆細胞・破骨細胞においては Akt1 が細胞自律的に分化と生存に促進的に働くことが明らかとなった。また、破骨細胞の形成を支持する骨芽細胞においては Akt1 が receptor activator of nuclear factor-κB ligand (RANKL)の発現を促す作用を持っていることが示唆された。これらより、Akt1 シグナルは骨組織での生理的骨吸収に対して促進的な作用を持つものと考えられた。

これらの結果より、Akt1 シグナルは、骨芽細胞においては FoxO3a／Bim 経路を介したアポトーシスを抑制することによる生存促進、Runx2 の転写活性を促進することによる分化促進、RANKL 発現を介した破骨細胞分化の支持に働き、破骨細胞においては細胞自律的に分化・生存促進に働くことにより、骨形成と骨吸収を促進しながら骨量・骨代謝回転の維持していることが明らかとなった。

以上、本論文は Akt1 の骨代謝系における調節機構をさまざまな側面から解析し、骨代謝の複雑な系の一端を明らかにした。これは骨代謝調節における多様な分子ネットワークの解明に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。