

審査の結果の要旨

氏名 安井哲郎

本研究は receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)により誘導される破骨細胞分化において TGF- β が果たす役割を明らかにするため、マウス骨髄細胞由来マクロファージへの RANKL 刺激(in vitro)あるいはマウス個体への RANKL 注射投与(in vivo)により破骨細胞分化を誘導する系を用いて TGF- β シグナル遮断の効果を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. TGF- β I型受容体キナーゼ阻害剤 SB431542 の投与下あるいはドミナントネガティブ型 TGF- β II型受容体(dn-T β RII)の強制発現下では RANKL による破骨細胞分化は強力に抑制された(in vitro)。また、RANKL 頭部皮下注射により誘導される頭蓋骨内の破骨細胞形成および骨吸収は、SB431542 を RANKL と混注投与することにより強力に抑制された。RANKL により誘導される破骨細胞分化において TGF- β シグナルの活性は必須であると考えられた。
2. Smad7 あるいは c-Ski の強制発現下では RANKL 刺激による破骨細胞分化が強力に抑制された。一方、Smad2 あるいは Smad3 の常時活性型変異体の強制発現下では、SB431542 投与下でも RANKL 刺激により破骨細胞分化が誘導された。破骨細胞分化における TGF- β の作用は Smad 経路を介していると考えられた。
3. SB431542 投与下あるいは dn-T β RII 強制発現下では、RANKL 刺激による TRAF6 複合体の誘導およびその下流の p38MAPK, JNK, I κ B の活性化が抑制された。TGF- β シグナルの活性は RANKL 下流の TRAF6 複合体形成に関与していると考えられた。
4. 293 細胞への遺伝子強制発現および免疫沈降実験により、Smad2 と Smad3 がその MH2 ドメインを介して TRAF6 と結合しうることが示唆された。
5. マウス骨髄細胞由来マクロファージに Smad3 を強制発現させた上で RANKL 刺激を行うと TRAF6 と Smad3 の結合が誘導された。Smad3 の MH2 ドメイン欠損変異体を強制発現させた場合はこの結合は抑制され、破骨細胞形成も抑制された。破骨細胞分化過程における RANKL 下流シグナルの活性には TRAF6 への活性型 Smad3 の結合が重要であると考えられた。

以上、本論文は RANKL 刺激で誘導されるマウス破骨細胞分化における TGF- β の必須性を示し、さらに RANKL 下流シグナル伝達分子である TRAF6 に TGF- β 下流分子 Smad3 が結合することが破骨細胞分化に重要な役割を果たすと考えられることを示した。本研究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であり、学位の授与に値すると考えられる。