

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 深井 厚

本研究の目的は生理的な軟骨形成および軟骨病的状態である変形性関節症における Akt1 の役割を解明し、その分子機序を明らかにするため、ノックアウトマウスを用いた生理的条件下および変形性関節症誘導モデルでの *in vivo* の解析、ならびにマウス肋軟骨由来の初代培養軟骨細胞、軟骨系細胞株を用いた *in vitro* の解析により、下記の結果を得ている。

1. 軟骨細胞において Akt1 は最も優位に発現していたため、Akt1 ホモノックアウトマウスを経時的に解析したところ、骨格パターンニングに明らかな異常はみられなかったが、野生型マウスと比較して成長障害があった。また免疫染色などを用いて組織学的解析をすると、野生型マウスと比較して軟骨細胞の増殖や肥大分化には影響しなかったが、軟骨細胞の石灰化が減少していた。これらのデータより、Akt1 シグナルは骨格成長の軟骨内骨化において軟骨細胞の増殖、肥大化には影響しないが、生理的な軟骨細胞石灰化に促進的な作用をしていることが示唆された。
2. Akt1 ホモノックアウトマウスと同胞野生型マウスに対してマウス変形性膝関節症モデルを作製した検討から、病的条件下の軟骨代謝機構においては、Akt1 の欠損により軟骨基質破壊、軟骨細胞肥大化や非石灰化の骨棘形成には影響はないが、石灰化の骨棘形成が抑制された。これらのデータより、Akt1 シグナルは病的条件下の変形性関節症において、血管誘導の無い脛骨内側関節での関節軟骨の変性や肥大化、関節辺縁での非石灰化の骨棘形成には影響しないが、血管の誘導がある関節辺縁での軟骨細胞石灰化による骨棘形成に促進的な作用をしていることが示唆された。
3. 肋軟骨/関節軟骨由来初代培養軟骨細胞とマウス軟骨前駆細胞株 ATDC5 を用いて、軟骨内骨化の軟骨代謝機構における Akt1 の役割について検討した。その結果、軟骨細胞の増殖・肥大分化には Akt1 は影響せず、石灰化は、Akt1 の gain-of-function によって増強され、Akt1 の loss-of-function によって抑制された。また石灰化を抑制するピロリン酸産生分子 ANK、NPP1 の発現およびプロモーター転写活性は、Akt1 の gain-of-function によって抑制され、Akt1 の loss-of-function によって増強された。これらのデータより、軟骨細胞における

Akt1 シグナルは、その増殖・肥大分化には影響しないが、ピロリン酸産生分子の発現を抑制することによって軟骨石灰化を促進していることが示唆された。

以上、本論文は、軟骨細胞における Akt1 シグナルが、その増殖・肥大分化には影響しないが、ピロリン酸産生分子の発現を抑制することによって軟骨石灰化を促進して、生理的な骨格成長や変形性関節症における骨棘形成を制御する作用をもつ重要な分子であることを明らかにした。本研究はこれまで全容が解明されていない、軟骨内骨化の軟骨代謝調節機構に働くと考えられるネットワーク網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。