

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 于 太永

脂溶性生理活性物質は、生体内において様々な器官や組織を標的とし、幅広い恒常性の維持に重要な役割を担っている。脂溶性生理活性物質の骨代謝への作用メカニズムの1つは、リガンドとして結合する核内受容体を介する事が証明されている。核内受容体は受容体型転写因子として機能し、リガンド依存的に標的遺伝子の転写を制御する。核内受容体の骨代謝制御機構における生理的重要性については、実際、核内受容体遺伝子欠損マウスの骨表現型解析により徐々に明らかになりつつある。一方で、脂溶性生理活性物質の中には核内受容体とは種類の異なる受容体であるダイオキシン受容体 (AhR) を介し、作用を発揮するものも知られている。AhR は全身に広く発現し、近年の AhR 遺伝子欠損マウスの解析から、肝臓や血管の発達や、免疫系の活性化制御など、様々な恒常性の維持や病態に寄与していることが明らかになりつつある。しかしながら、AhR 遺伝子欠損マウスの骨表現型解析は未だ報告がなく、骨代謝制御機構における AhR の生体内高次機能は、その大部分が不明である。

そこで、本研究では、全細胞種および骨細胞種特異的 AhR 遺伝子欠損マウスの作出とその変異を解析することで、骨代謝制御機構における AhR の生体内高次機能を解明することを試みた。

第二章では、全身性 AhR 遺伝子欠損マウス (*AhR*^{-/-}) の骨表現型を解析した。WT と比較して *AhR*^{-/-} では有意な骨密度の増加が認められた。さらに、骨形態計測を行ったところ、*AhR*^{-/-} 雄マウスでは骨吸収パラメータの低下が見られた。これらの結果より、AhR が骨代謝機構において生理的作用を発揮していると推察した。しかしながら、*AhR*^{-/-} は、肝臓の発達異常、免疫不全などの様々な表現型を呈することが既に報告されている。そのため、これら *AhR*^{-/-} の骨量増加が、骨組織における直接的な AhR 機能欠損によるものなのか、あるいは他の組織における AhR 欠損による二次的な影響ものなのかは不明である。そこで、骨組織

特異的な AhR 遺伝子欠損マウスを作出し、解析することとした。

第三章では、まず、骨芽細胞における直接的な AhR の機能を明らかにするため、Coll1a1-Cre Tg マウスと AhR flox マウスとの交配により、骨芽細胞特異的 AhR KO マウス ($AhR^{AOB/ΔOb}$) を作出した。骨解析を行ったところ、 $AhR^{AOB/ΔOb}$ では明らかな骨密度変化を認めず、各種パラメータにおいても有意な変化を認めなかった。以上の結果より、骨芽細胞における AhR の機能は、骨代謝制御において顕著ではないことが明らかとなった。次に、骨吸収を担う破骨細胞における直接的な AhR の機能を解明するために、Ctsk-Cre マウスと AhR flox マウスとの交配により、破骨細胞特異的 AhR KO マウス ($AhR^{AOc/ΔOc}$) を作出し、解析を進めた。骨密度測定を行ったところ、対照群と比べて $AhR^{AOc/ΔOc}$ では、雌雄ともに AhR と同様に骨密度の増加を認めた。骨形態計測を行ったところ、 $AhR^{AOc/ΔOc}$ では、雌雄ともに海綿骨量の増加、破骨細胞数と破骨細胞面の減少を示した。骨形成パラメータ全てに変化は認められなかった。以上の結果より、 $AhR^{AOc/ΔOc}$ の骨量増加は、破骨細胞の減少による骨吸収低下が原因であることが示唆された。

第四章では、性ホルモン欠乏により誘導される、骨吸収亢進を伴う骨量減少における AhR の機能を明らかにする目的で、 $AhR^{AOc/ΔOc}$ マウスおよび対照群に精巣摘出術(ORX)あるいは卵巣摘出術(OVX)を行った後に、骨解析を行った。対照群と同様に $AhR^{AOc/ΔOc}$ においても ORX あるいは OVX により、破骨細胞数と破骨細胞面の上昇に伴う長管骨の骨密度低下を同程度に認めた。しかしながら、ORX あるいは OVX を行った状態でも $AhR^{AOc/ΔOc}$ の骨密度は対照群と比較して有意に高値を示した。このことから、生理的条件下と同様、エストロゲンあるいはアンドロゲン欠乏により誘発された病理状態においても、AhR は破骨細胞による骨吸収を促進して、骨代謝を負に制御することが示唆されました。

本論文では、全身性及び組織特異的 AhR 遺伝子欠損マウスの骨解析により、骨代謝制御機構において、AhR は破骨細胞による骨吸収を促進し、骨量を負に調節することを明らかにした。これにより、これまで殆ど不明であった骨代謝制御機構における AhR の高次機能についての新たな知見を得た。今後の詳細な分子メカニズムの解明により、破骨細胞における AhR の分子基盤が明らかになることが期待される。以上より、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。