

氏 名	田中 賢一郎
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第401号
学位授与年月日	平成25年3月21日
審 査 委 員	主査 教授 内尾 祐司
	副査 教授 奥西 秀樹
	副査 教授 熊倉 俊一

論文審査の結果の要旨

筋組織が骨代謝に及ぼす作用(筋骨連関)については不明な点が多い。申請者は進行性骨化性線維異形成症の原因として同定された変異遺伝子(activin-like kinase 2 変異遺伝子)を筋芽細胞に導入するとcDNA マイクロアレイで osteoglycin (OGN)発現が低下するという自らの研究結果から、OGN が筋骨連関に関与すると仮説し、以下の実験を行った。まず、筋芽細胞 C2C12 細胞をウマ血清で培養すると筋骨細胞の分化マーカーである Myf6, MyoD, myogenin の mRNA レベルが増加するとともに OGN mRNA が増加した。次いでマウス頭蓋冠由来骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞に recombinant OGN を添加して培養すると Runx2, Osterix の mRNA 発現が抑制され、type 1 collagen (Col-1), alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OCN)の mRNA 発現が亢進し、石灰化が促進された。これはリポフェクション法で同細胞に OGN を過剰発現させた場合にも同様の結果を得た。一方、OGN siRNA を用いてマウス初代骨芽細胞の内因性 OGN を抑制すると、Runx 2 の mRNA 発現は亢進し、Col-1, ALP, OCN の mRNA 発現は抑制された。以上から、OGN が未熟骨芽細胞の分化を抑制し、成熟骨芽細胞の分化および石灰化を促進することが判明した。次に、C2C12 細胞に OGN を添加すると、bone morphogenetic protein-2 で亢進した Runx2, Osterix, Col-1, ALP, OCN の mRNA 発現は抑制され、筋芽細胞から骨芽細胞への分化を抑制した。一方、OGN を過剰発現させた筋芽細胞の培養上清は MC3T3-E1 細胞とマウス初代骨芽細胞の Runx2, Osterix の mRNA 発現を抑制し、Col-1, ALP, OCN の mRNA 発現を亢進させた。これに対して OGN siRNA を用いて筋芽細胞の内因性 OGN を抑制した培養上清は、MC3T3-E1 細胞とマウス初代骨芽細胞の Runx2, Osterix の mRNA 発現を亢進させ、Col-1, ALP, OCN の mRNA 発現を阻害した。これより、筋芽細胞から産生された OGN は成熟骨芽細胞の分化を促進させることが示された。さらに OGN は MC3T3-E1 細胞の extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2 のリン酸化を増強し、Col-1 発現を増強させた。この反応は ERK1/2 阻害薬により抑制されたものの、内因性 transforming growth factor- β 阻害薬では影響を受けなかった。以上の結果より、筋芽細胞の分化に伴い OGN 発現は増加し、筋芽細胞より産生される OGN は成熟骨芽細胞の分化および石灰化を促進することが判明した。また、OGN の Col-1 発現増強には ERK1/2 リン酸化が関与していることが明らかになった。これらのことより、筋組織由来の OGN が骨代謝に重要な役割を果たすことが明らかになっただけでなく、OGN は、筋肉量の減少を生じるサルコペニアや骨粗鬆症、そしてそれらを包含するロコモティブ・シンドロームに対する新たな治療手段ともなり得る可能性が示唆された。以上を総合的に評価して、本論文は学位授与に値すると判断した。