

## 論文の要約

報告番号	① 乙	医 第 1177 号	氏名	中村信元
学位論文題目	Activating transcription factor 4, an ER stress mediator, is required for, but excessive ER stress suppresses osteoblastogenesis by bortezomib			
<p>新規抗骨髄腫治療薬であるプロテアソーム阻害薬ボルテゾミブ(Bor)は、小胞体ストレスを惹起し、抗腫瘍作用とともに骨芽細胞分化をもたらすことが注目されている。Activating transcription factor-4 (ATF4)は、ATF/CREB ファミリーに属する塩基性ロイシンジッパー型転写因子で、小胞体ストレスによりその翻訳が亢進し、プロテアソームで分解される。ATF4は、骨芽細胞の初期分化を惹起する Runx2 と協調的に作用し骨芽細胞の成熟を促進する骨芽細胞分化に必須の因子である。プロテアソーム阻害薬は小胞体ストレスを惹起することから、Bor の骨芽細胞分化誘導に ATF4 の関与が示唆されるが、Bor による骨芽細胞分化誘導の機序は不明なままである。そこで、申請者は Bor により誘導される小胞体ストレスの骨芽細胞分化に及ぼす影響を明らかにするために、ATF4 の役割に着目し以下の検討を行った。</p> <p>Bor は、骨髄間質細胞や MC3T3-E1 前骨芽細胞株の ATF4 蛋白量を用量依存的に増加させた。この Bor による ATF4 蛋白量の増加が蛋白翻訳の抑制薬である cycloheximide の添加によりほぼ消失したことより、この ATF4 蛋白量の増加はプロテアソーム阻害により分解が抑制された ATF4 の細胞内蓄積ではなく、小胞体ストレスによる ATF4 の蛋白翻訳の誘導によると考えられた。ATF4 の標的遺伝子で骨芽細胞分化の後期に発現するオステオカルシンのプロモーター活性は、Bor の添加により MC3T3-E1 細胞において増強した。オステオカルシンは Runx2 の標的遺伝子でもあるため Runx2 ノックダウン下での Bor の影響をさらに検討した。Runx2 のノックダウン下でも Bor はオステオカルシンのプロモーター活性を増強したが、ATF4 siRNA の添加によりその大部分が抑制された。また、低用量の Bor による石灰化結節の形成促進活性は、ATF4 siRNA の添加により抑制された。これらの結果より、ATF4 の Bor による骨芽細胞分化誘導における重要な役割が示された。</p> <p>しかしながら、Bor は、低用量(1-10 nM)では MC3T3-E1 細胞による石灰化結節の形成を促進したが、高用量(20 nM 以上)では消失しており、さらに骨芽細胞分化マーカーのオステリックスやオステオカルシンの発現を抑制していた。さらに、Bor は用量依存性に eIF2<math>\alpha</math> のリン酸化を増加し、20 nM 以上の高用量では CHOP の発現とともに MC3T3-E1 の細胞死がみられ、ATF4-CHOP 経路によるアポトーシスが誘導されていると考えられた。このように、Bor は高用量では ATF4 の発現を増加させるものの骨芽細胞分化を障害するため、Bor の骨芽細胞分化誘導効果を最大限に引き出すためには、現在のボラス投与に代わる投与方法の最適化の検討が必要と思われる。</p>				