

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 185 号	氏 名	金惠珍 (HYEJIN KIM)
学位論文題目	Studies on the Effects of Estrogen Stimuli on Osteogenesis 骨形成に及ぼすエストロゲン刺激の影響に関する研究		
<p>内容要旨</p> <p>【目的】骨形成の大半を担う内軟骨性骨化では、軟骨細胞や骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収がバランスをとって骨量を調節している。ところが加齢等でこのバランスが崩れて骨吸収が骨形成を上回ると、骨密度が大きく減少し骨粗鬆症を発症する。ところで、大豆イソフラボン(SI)のダイゼイン(Diz)やその腸内細菌代謝産物であるエクオール(Eq)は女性ホルモンのエストラジオール(E2)と類似作用を持ち、骨粗鬆症に予防効果を示すことが知られている。これまでに、これら内在性及び植物エストロゲン(Est)は破骨細胞の寿命を調節して骨吸収を制御することが明らかにされている。しかし Est が骨芽細胞を中心とした骨形成過程に及ぼす影響については、未だ分子的な知見が乏しい。そこで本研究では、SI や E2 の Est 刺激が骨芽細胞の分化にどのような効果を及ぼすかにつき検討した。</p> <p>【方法】ウシ胎児血清(FBS)中の内在性 Est を除去するために Charcoal/Dextran で処理した FBS(CD-FBS)を作製した。骨芽細胞株 MC3T3-E1 を CD-FBS あるいは FBS を含む培地中で骨分化刺激の存在下に 4 週間培養し、その分化過程に及ぼす SI や E2 の影響を解析した。細胞の石灰化は Alizarin Red 染色で、MC3T3-E1 の各種骨形成関連遺伝子の発現変動は RT 及び qRT-PCR 法で検討した。またサチライシン様プロテインコンベルターゼ PACE4 (PACE4)については、RNAi によるノックダウンの影響も検討した。</p> <p>【結果・考察】FBS 存在下では顕著な石灰化が見られたのに比べ、CD-FBS 存在下では MC3T3-E1 の石灰化能は著しく低下していた。しかしそこに Eq, Diz, E2 を添加すると顕著に石灰化能が回復し、Diz よりも Eq の方が約 1 桁低濃度で分化促進することも観察された。また SI や E2 で回復する石灰化はエストロゲンレセプター(ER)阻害剤により抑制された。次に種々の骨形成関連遺伝子の mRNA 発現変動を観察した結果、ERα の発現量が CD-FBS 条件下という Est 刺激の枯渇によって、経時的な発現量の上昇を示した。さらに、興味深いことに PACE4 は CD-FBS 条件下では顕著な発現を示さなかったものの、そこに SI や E2 刺激を加えると FBS 条件下と同様に骨分化と並行した顕著な発現上昇が観察された。そこで同細胞の PACE4 をノックダウンしたところ、FBS 存在下においても石灰化しなくなり、SI や E2 で刺激しても石灰化の回復は見られなかった。以上の結果から、ER を介した刺激が骨芽細胞の PACE4 発現を調節し、それが骨分化促進因子の成熟化を促して骨分化を誘導することが示唆された。</p>			

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 先 第 185 号	氏 名	金 惠 珍
審査委員	主査 辻 明彦 副査 松木 均 副査 長宗秀明		
学位論文題目			
Studies on the Effects of Estrogen Stimuli on Osteogenesis (骨形成に及ぼすエストロゲン刺激の影響に関する研究)			
審査結果の要旨			
<p>骨代謝は骨形成と骨吸収のバランスで制御されており、正常な平衡状態が保たれている。骨形成の大部分は、軟骨細胞が分化した後に骨芽細胞との置換が起こり硬組織が形成されるという経過を辿る。また骨吸収は破骨細胞による骨の分解によって進行する。女性ホルモンとして知られるエストラジオール (E2) 等のエストロゲン (Est) の刺激はこの骨代謝を制御することが知られており、例えば、E2 によって骨分化は誘導され、破骨細胞による骨吸収が抑制される。また大豆イソフラボンのような植物EstもE2と同様な作用があるとされ、骨代謝異常による骨粗鬆症のホルモン補充療法などへの利用が期待されている。しかしこれらのEst刺激が骨形成に及ぼす作用に関しては、どのような分子機構で進行するのか、未だに詳細は不明な点が多い。本研究は、植物Estとして注目されている大豆イソフラボンのダイゼイン (Diz) やその細菌代謝産物のエクオール (Eq) をE2と比較しながら、Est刺激が骨形成に最も重要とされる骨芽細胞の分化に及ぼす影響について、分子レベルで解析を行ったものである。</p> <p>本研究ではまず、Est刺激は軟骨細胞分化より骨芽細胞分化に対して著しい促進作用を示す事、またその作用はE2のみでなく、DizやEq (但しその作用はEq>Diz) でも同様な作用が起こる事を示している。そして、この分化促進作用はEst受容体阻害剤で阻害されることから、Est刺激によって誘導されることも確認している。さらに、これらEst刺激が骨芽細胞の骨関連遺伝子のmRNA発現に及ぼす影響を解析した結果、Est刺激による骨分化と並行してSubtilisin様プロテインコンバーターゼPACE4の発現量が増加することを見出している。この結果を受けて、PACE4に特異的なRNAiによる遺伝子ノックダウン実験を行い、PACE4の発現が骨芽細胞分化に必須であることも見事に証明している。</p> <p>以上のように、本研究で学位申請者は骨形成分子機構の重要な分子の解明に成功しており、この研究結果は骨粗鬆症などの治療方法の開発においても有用な知見となることから、本論文は博士 (工学) の学位授与に値するものと判定する。</p>			