

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	田中 健二郎
論文審査 委員氏名	主査 戸苺 彰史 副査 金森 孝雄 原田 純			
論文題名	モノアミンシグナルによる骨代謝制御			

インターネットの利用による公表用

カテコールアミンやインドールアミン等などのモノアミンは主に、中枢神経や交感神経を介した情報伝達系に生理的役割を果たしている。近年、これらモノアミンが骨組織の代謝活動に関与していることが知られ、その生理的意義に注目が集まっている。骨組織は動的な組織であり、骨形成と骨吸収によるリモデリングによって骨量が一定に維持されている。これら骨代謝を担う細胞には様々なモノアミン受容体が局在しており、骨芽細胞にはセロトニン (5-HT) 受容体として、5-HT<sub>1B</sub>R、5-HT<sub>2A</sub>R、5-HT<sub>2B</sub>R、の三種のサブタイプが、アドレナリン受容体として  $\alpha_{1B}$ -AR、 $\alpha_{2B}$ -AR、 $\beta_2$ -AR のサブタイプが発現している。これまでの骨代謝研究により、5-HT<sub>2B</sub>R は骨量の正の制御に、5-HT<sub>1B</sub>R および  $\beta_2$ -AR は負の制御に関わっていることが明らかにされている。一方、5-HT<sub>2A</sub>R および  $\alpha_{1B}$ -AR シグナルについての研究は少なく未だ明らかにされていない。本研究は、この様な研究背景のもとに5-HT<sub>2A</sub>R および  $\alpha_{1B}$ -AR シグナルの骨代謝における生理的役割を明らかにすることを目的とし、マウスを用いた動物実験および培養骨芽細胞を用いた細胞実験の両面から薬理的あるいは分子生物学的に検討している。

その結果、5-HT<sub>2A</sub>R シグナルの薬理的遮断がマウス大腿骨の骨量/組織量 (BV/TV) を有意に低下させていることを観察し、その低下が骨形成の抑制に基づくことを形態計測より示している。また、骨芽細胞分化に関わる *Osterix (Osx)*、*Osteocalcin* 発現の有意な低下も骨組織の遺伝子発現より観察している。さらに、培養細胞の MC3T3-E1 細胞においても、5-HT<sub>2A</sub>R 遮断

薬が骨芽細胞の分化マーカーであるアルカリホスファターゼ活性を濃度依存的に抑制し、5-HT<sub>2A</sub>R をノックダウンした C3H10T1/2 細胞における *Osx* mRNA の著しい発現低下を認めている。これらの結果より、骨芽細胞における 5-HT<sub>2A</sub>R シグナルの薬理的な遮断は *Osx* 遺伝子による骨芽細胞の分化を抑制し、骨形成の抑制に基づいた骨量の減少を惹起してことを示している。また、同様に、 $\alpha_1$ -AR シグナルの薬理的遮断においても BV/TV の有意な低下を見出し、その低下が骨形成の低下に基づくこと、さらに、骨組織において骨芽細胞分化に関わる遺伝子発現の有意な低下も観察している。これらの現象は  $\alpha_{1B}$ -AR ノックアウトマウスにおいても認めている。これらの結果より、薬理的あるいは分子生物学的な  $\alpha_{1B}$ -AR シグナルの除去が、骨形成の抑制に起因する骨量の減少を惹起していることを明らかにしている。

すなわち、本研究は、5-HT<sub>2A</sub>R および  $\alpha_{1B}$ -AR シグナルが骨形成を促すことにより骨量を増やす可能性を示し、骨吸収を抑制する従来の骨粗鬆症治療薬とは異なった、骨形成を促進する骨粗鬆症治療薬の開発に寄与する研究と位置づけることが出来る。

さらに、本研究では、骨芽細胞における  $\alpha_1$ -AR シグナルの標的分子をマイクロアレイ解析し、その候補として転写遺伝子 CCAAT/enhancer binding protein delta (C/ebp  $\delta$ 、Cebpd) を挙げている。すなわち、フェニレフリンで  $\alpha_1$ -AR シグナルを刺激した MC3T3-E1 細胞で Cebpd mRNA の有意な発現上昇を認め、この上昇がプラゾシンにより消失することを認めている。さ

らに、MC3T3-E1 細胞に BrdU の取り込み試験を行い、Cebpd の骨芽細胞増殖への関与について検討し、siRNA-Cebpd 群では BrdU の取り込み抑制を、Cebpd 安定過剰発現株群では BrdU の取り込み促進を認めている。これらの結果より、骨芽細胞における  $\alpha_1$ -AR シグナルの下流に存在する Cebpd が細胞増殖を促進していることを明らかにしている。

これは、骨芽細胞における  $\alpha_1$ -AR シグナル伝達系に転写因子 cebpd の関与を認めるものであり、骨芽細胞の増殖機構における研究の進展に寄与している。

以上、本論文は従来のモノアミンシグナルによる骨代謝制御に加え、5-HT<sub>2A</sub>R や  $\alpha_{1B}$ -AR が骨量を正に制御していること、5-HT が骨芽細胞に発現する 5-HT<sub>2A</sub>R を介して骨芽細胞分化を正に制御すること、および、NA が骨芽細胞に発現する  $\alpha_{1B}$ -AR を介して Cebpd 発現を正に制御することで細胞増殖を促進することを明らかにしている。すなわち、これら受容体シグナルが骨量増加に関与していることを示すとともに、新たな骨粗鬆症治療薬の開発に寄与するものと思われる。この新知見は歯科薬理学、口腔生化学、歯科麻酔学並びに関連諸学科に寄与するところが大きいと考えられ、博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。