

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	楊 承諭
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳 副査 戸荊 彰史 有地 榮一郎 宮澤 健		
論文題名	ガングリオシド GD3 合成酵素遺伝子欠損マウスにおける加齢に伴う骨量減少の抑制		

インターネットの利用による公表用

ガングリオシドは、脊椎動物の神経組織に多く発現し、神経系の調節に関与していると考えられてきた。近年、様々なガングリオシドを欠損させた遺伝子改変マウスを用いた研究により、ガングリオシドが神経組織や精子形成の健全性に不可欠であることが報告されている。シアル酸を2つもつb系列ガングリオシドは、感覚神経系の調節や損傷した舌下神経の再生、脂肪組織中のレプチン分泌に重要な役割を果たしていることが示されている。一方、これらのガングリオシドは腫瘍関連抗原としてのみならず、細胞増殖や浸潤などの癌悪性形質を増強させることが知られている。

シアル酸を1つもつa系列ガングリオシドでは、GD1aが骨髄間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化に関与していることが報告されているが、これらの研究は培養細胞による実験のみであり、生体におけるガングリオシドと骨代謝の関係についての報告はない。そこで、a系列ガングリオシドGM3にシアル酸を付加させることでb系列ガングリオシドGD3を合成するGD3合成酵素に着目し、生体においてガングリオシドが骨代謝制御に関与しているのかを明らかにすることを目的に、本研究を行った。

はじめに、MC3T3 E1細胞、RAW264.7細胞および初代培養破骨細胞前駆細胞におけるb系列ガングリオシドの発現をフローサイトメトリーを用いて検討した。次に、野生型(WT)およびGD3合成酵素ノックアウト(GD3S KO)マウスの15および40週齢時の大腿骨を採取し、 μ CTを用いてその骨量を計測した。また、大腿骨組織切片をHEおよびTRAP染色することで、GD3合

成酵素欠損による骨芽細胞数および破骨細胞 (TRAP 陽性多核細胞) 数への影響の検討を行い、以下の結果を得ている。

1. b 系列ガングリオシド (GD3、GD2、GD1b、GT1b) は、MC3T3 E1 細胞では発現が認められなかった。一方、RAW264.7 細胞および初代培養破骨細胞前駆細胞では、GD3、GD2、GD1b の発現が認められ、その発現は破骨細胞分化誘導後には消失もしくは減少した。

2. 15 週齢の WT と GD3S KO マウスの間では、骨量に有意な差は認められなかったが、40 週齢 GD3S KO マウスでは WT と比較して、骨量が高くなった。

3. 骨芽細胞数および骨芽細胞表面の長さは、15 および 40 週齢ともに WT と GD3S KO マウスの間で有意な差は認められなかった。

4. 破骨細胞数および破骨細胞表面の長さは、15 週齢の WT と GD3S KO マウスの間で有意な差は認められなかったが、40 週齢では、WT と比較して GD3S KO マウスで有意に減少した。

これらの結果から、本研究では、b 系列ガングリオシドの発現が骨芽細胞には認められず破骨細胞に認められたこと、また、骨形成パラメーターにおいて WT と GD3S KO マウスの間で有意な差が認められなかったことより、b 系列ガングリオシドが骨形成に影響しないことが示された。WT の骨量は加齢により 59%減少したのに対して、GD3S KO マウスでは加齢による骨量減少は 23%であった。この結果と、GD3S KO マウスで骨吸収パラメーターが低下したことより、GD3 合成酵素欠損が骨吸収を減弱し、加齢に伴う骨量減少

を抑制することが示された。本研究は、生体レベルにおいてガングリオシド合成酵素が骨代謝に影響を及ぼすことを示す最初の報告である。

GD3S KO マウスでは血清レプチン濃度が減少しており、b 系列ガングリオシドがレプチン分泌を制御していることが報告されている。レプチンは脂肪組織量と体重の調節に関与し、レプチン分泌低下は肥満を引き起こす。また、レプチンが交感神経系を介して骨吸収を促進することも知られている。本研究において、40 週齢の GD3S KO マウスでは骨量だけでなく体重も WT と比較して高値であった。さらに、40 週齢の GD3S KO マウスの骨吸収パラメーターは、WT と比較して低値であった。これらの結果より、GD3 合成酵素が欠損することで血清レプチン濃度が低下し、骨吸収の抑制に繋がった可能性が考えられる。GD3 合成酵素によって調節されるレプチン分泌が骨代謝に影響しているのかを明らかにするためには、WT と GD3S KO マウスにおけるレプチン血清濃度を比較するとともに、レプチンを投与した GD3S KO マウスの骨量において、WT と同程度の加齢による骨吸収が起こるのかを今後検討する必要がある。

本研究では、GD3 合成酵素欠損が、破骨細胞数を減少させることで、加齢に伴う骨吸収を抑制することが明らかになり、この知見は、将来、加齢に伴って起こる骨粗鬆症の治療や予防に応用できる可能性を示し、歯科矯正学のみならず関連諸分野に寄与するところが大きい。よって本論文は博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。