

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 チャウワンアコーン ウィチダー

学位論文題目 Ameloblastin attenuates RANKL-mediated osteoclastogenesis by suppressing activation of nuclear factor of activated T-cell cytoplasmic 1 (NFATc1)

審査委員 (主査) 古株 彰一郎



(副査) 竹内 弘



(副査) 臼井 通彦



学位審査結果の要旨

Ameloblastin (Ambn)と Enamelin (Enam)は細胞外マトリクスタンパク質でエナメル質の形成に重要であることが知られているが、近年 Ambn と Enam は骨組織にも発現し、骨組織を構成する細胞の分化や機能における役割が注目されている。

そこでまず、破骨細胞支持能を持つ骨芽細胞系細胞に対する Ambn と Enam の役割を検討した。マウス骨髄間質細胞 ST2 細胞に対してリコンビナントヒト(rh) Ambn と rh Enam で処理すると、活性型 Vitamin D3 と Dexamethasone で誘導した RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand)の発現を強力に抑制することが real-time RT-PCR 法や Western Blotting 法による解析から明らかになった。さらに、Ambn や Enam による RANKL 発現抑制効果は ERK1/2 と p38MAPK の活性化阻害を介することを突き止めた。

次に Ambn の破骨細胞分化に対する役割に注目し、マウス大腿骨と脛骨から採取した骨髄細胞、破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞に対して rh Ambn による前処理後、RANKL 存在下に培養を行い、破骨細胞の形成を酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色によって評価した。その結果、Ambn の添加は RANKL が誘導する破骨細胞形成を有意に抑制した。また、real-time RT-PCR 法により、RANKL が誘導する破骨細胞分化マーカーの発現は Ambn の添加により抑制されることが明らかとなった。さらに、Ambn は破骨細胞成熟化の指標であるアクチンリングの形成とリン酸カルシウムプレート吸収も抑制した。これら抑制には破骨細胞分化のマスター調節因子である NFATc1 の発現抑制が強く関わっていた。すなわち、1) 転写抑制因子である Blimp-1 の発現抑制を介した NFATc1 の negative regulator である Irf8、Bcl6 の発現亢進、2) MAPK の活性化を介したシグナリング経路の阻害、3) 破骨細胞分化を制御するカルシウム oscillation の抑制の 3 つの経路が関わっていることが明らかとなった。

本研究内容について申請者のチャウワンアコーン氏に対し、公開審査会において主査と 2 名の副査による試問を行い、本研究の新規性、実験方法や結果の解釈および当該分野における意義、今後の展望と課題について概ね適切な回答を得た。

Ambn や Enam の破骨細胞への作用とその機序の一端を解明した本研究の成果は、骨代謝の詳細な調節機構の全容を理解し、骨関連疾患の発症機序の解明を通じて新たな治療法開発に寄与することが期待できることから、審査委員会では本論文を九州歯科大学大学院学則第 5 条 4 項に規定する者に必要な学位論文として基準を全て満たすものと判断した。