

氏名（本籍） 藤田 俊一（岡山県）

学位の種類 博士（医学）

学位授与番号 甲第 663 号

学位授与日付 平成 31 年 3 月 14 日

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当

学位論文題目 Pharmacological inhibition of tankyrase induces bone loss in mice by increasing osteoclastogenesis

審査委員 教授 勝山 博信 教授 長谷川 徹 教授 玉田 勉

### 論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

Tankyrase は poly(ADP-ribose)polymerase として機能し、標的蛋白の分解を誘導する。標的蛋白の一つに Wnt 制御蛋白である AXIN があり、Tankyrase 阻害剤は AXIN の蓄積を介して Wnt 経路を阻害すると考えられる。又、Tankyrase はアダプター蛋白 SH3BP2 を分解することによる破骨細胞機能亢進に寄与する可能性がある。本研究では、tankyrase 阻害剤の骨代謝に及ぼす影響を検討した。まず、in vitro の実験では野生型マウス骨髄由来マクロファージ(BMMs)及びヒト末梢血単核細胞(PBMCs)に及ぼす Tankyrase 阻害剤の影響を検討した。BMMs に対して、Tankyrase 阻害剤は TRAP 陽性多核細胞形成、破骨細胞関連遺伝子発現、骨吸収活性を有意に亢進させた。その機序として、SH3BP2 蛋白の増加と Syk のリン酸化亢進及び NFATc1 の核内移行亢進が示された。PBMCs においても同様に Tankyrase 阻害は破骨細胞分化・機能を亢進させた。一方、マウス頭蓋冠細胞を骨芽細胞分化誘導培地で培養し、分化、石灰化能に及ぼす影響を検討したところ、Tankyrase の阻害は骨芽細胞関連遺伝子発現及び骨形成を有意に亢進させた。その機序としては、ABL、TAZ、RUNX2 の核内移行亢進が示された。β-catenin/CBP 阻害剤では Wnt 阻害作用により骨芽細胞分化は抑制された。次に in vivo の実験においては、7 週齢の野生型マウスに Tankyrase 阻害剤を 4 週間経口投与し、脛骨と腰椎のマイクロ CT 解析と組織解析、及び血清中の TRAP5b、PINP、OCN の測定を行った。Tankyrase 阻害剤投与により脛骨及び腰椎椎体共に海綿骨量が有意に減少し、組織の TRAP 染色では破骨細胞の有意な増加を認めた。血清骨代謝マーカーは Tankyrase 阻害剤により変化を認めなかった。

以上より、in vitro では Tankyrase 阻害剤は破骨細胞、骨芽細胞とも分化を亢進させたが、in vivo では破骨細胞数増加による骨量減少を認めたことより、Tankyrase は新規の骨代謝調節因子であることを検証したところに意義がある。

## 学位審査会（最終試験）の結果の要旨

学位審査発表会においては、冒頭に Tankyrase の作用として AXIN 阻害による Wnt/ $\beta$ -catenin の活性化と Tankyrase 阻害剤による抗癌剤や抗線維化薬としての可能性を示した。又、SH3BP2 は ABL や Syk を活性化して RANKL 由来の破骨細胞分化の亢進を来すので、Tankyrase 阻害剤は破骨細胞機能を亢進することを示した。これらの内容は所属教室が長年に亘って継続して取り組んでいる研究テーマであり、関連領域における十分な学識を有することが示された。本研究では Tankyrase 阻害剤を用いることで Tankyrase が新規の骨代謝調節因子であることを明らかにしたことに意義がある。又、Tankyrase 阻害剤は抗癌剤や抗線維化剤としての臨床応用が期待されているが、骨量減少という副作用を起こす可能性を示唆した点でも新規の知見と思われる。審査委員からは *in vitro* と *in vivo* の結果の相違についての質問があり、*in vivo* では他の細胞の作用の可能性があること、さらに Tankyrase 阻害剤が骨形成作用を示すには骨吸収に必要な量の 300 倍もの濃度が必要であること等の説明があった。又、*in vivo* において他の骨代謝マーカーを選択しなかった理由についても適切に返答した。マイクロ CT 解析では撮影は短時間であるが、結果の解析に長時間を要し、結果を出す上での苦労も披露された。組織解析では骨吸収が主体であったため、骨形成の状態を質問されたが、標本作成上の技術的困難さにより骨形成を検討することができなかつたと返答があり、今後の検討課題とされた。

以上より、研究領域に関する十分な能力と今後の研究を遂行する十分な能力を有していること、さらに学問に対する真摯な態度も持ち合わせていることが確認された。従って、審査員の合議の結果、本申請者は専攻科目並びに関連分野の学識と研究遂行能力を有すると判断し合格と判定した。