

氏名	向井知之
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4201 号
学位授与の日付	平成19年9月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文題目	TNF- $\alpha$ inhibits BMP-induced osteoblast differentiation through activating SAPK/JNK signaling (TNF $\alpha$ はSAPK/JNKシグナルを介して、BMPによる骨芽細胞分化を抑制する)
論文審査委員	教授 尾崎敏文 教授 許南浩 准教授 田中弘之

#### 学位論文内容の要旨

マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を用い、BMP による骨芽細胞分化に及ぼす TNF $\alpha$  の分化抑制機序を検討した。BMP-2,-4,-6,-7 は骨芽細胞分化の指標である Runx2 mRNA 発現, osteocalcin mRNA 発現, アルカリフォスファターゼ活性, PTH への反応性 (PTH 刺激による cAMP 産生) を速やかに亢進し、TNF $\alpha$  が加わることでそれら骨芽細胞分化マーカーは濃度反応性に抑制された。BMP による Smad1,5,8 のリン酸化も、TNF $\alpha$  により抑制された。また、cDNA アレイでの解析では TNF $\alpha$  により抑制型 Smad6 の発現亢進を認めた。MAPK シグナルの検討では、TNF $\alpha$  は BMP 非依存的に ERK1/2, SAPK/JNK をリン酸化した。MAPK 阻害剤を用いた、Id-1 プロモーター活性や Runx2, osteocalcin mRNA の定量 PCR による解析から、MAPK シグナルの中でも、特に SAPK/JNK を抑制することで TNF $\alpha$  の骨芽細胞分化抑制効果が解除されることが明らかとなった。今回の検討から、TNF $\alpha$  は SAPK/JNK の活性化、Smad6 の発現亢進を介して、BMP-Smad シグナル経路を抑制し、骨芽細胞分化を抑制していると考えられた。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は、マウス筋芽細胞株 C2C12 細胞を用い、BMP による骨芽細胞分化に及ぼす TNF $\alpha$  の分化抑制機序を検討している。BMP-2、-4、-6、-7 は骨芽細胞分化の指標である Runx2 mRNA 発現、osteocalcin mRNA 発現、アルカリフォスファターゼ活性、PTH への反応性 (PTH 刺激による cAMP 産生) を速やかに亢進し、TNF $\alpha$  が加わることでそれらの骨芽細胞分化マーカーは濃度反応性に抑制された。また、cDNA アレイでの解析では TNF $\alpha$  により抑制型 Smad6 の発現亢進を認めた。MAPK シグナルの検討では、TNF $\alpha$  は BMP 非依存的に ERK1/2、SAPK/JNK をリン酸化した。MAPK 阻害剤を用いた、Id-1 プロモーター活性や Runx2、osteocalcin mRNA の定量 PCR による解析から、MAPK シグナルの中でも、特に SAPK/JNK を抑制することで TNF $\alpha$  の骨芽細胞分化抑制効果が解除されることが明らかとなった。今回の検討から、TNF $\alpha$  は SAPK/JNK の活性化、Smad6 の発現亢進を介して、BMP-Smad シグナル経路を抑制し、骨芽細胞分化を抑制していると考えられる。これは重要な知見を得たものとして価値のある業績と認める。

よって、本研究者は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。