

論文審査及び最終試験又は学力の確認の結果の要旨

甲・乙	氏名	横本 真希
学位論文名	Activation of AMP-activated Protein Kinase Decreases Receptor Activator of NF- $\kappa$ B Ligand Expression And Increases Sclerostin Expression by Inhibiting The Mevalonate Pathway in Osteocytic MLO-Y4 Cells	
学位論文審査委員	主査	中村 守彦
	副査	浦野 健
	副査	内尾 祐司



論文審査の結果の要旨

AMP-activated protein kinase (AMPK)は細胞内エネルギー状態の恒常性に必須の分子であり、近年骨代謝においても重要であることが明らかになった。骨細胞は破骨細胞分化誘導因子receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B ligand (RANKL)と骨芽細胞分化抑制因子であるスクレロスチンを発現し、骨リモデリングを制御する重要な細胞であるが、骨細胞におけるAMPKの役割については不明である。そこで申請者は、骨細胞系MLO-Y4細胞におけるRANKL、スクレロスチン発現へAMPKが与える影響を検討した。AMPK活性化剤5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR)および siRNAによるAMPK $\alpha$  subunit knockdownのRANKLおよびスクレロスチン発現への影響をreal-time PCRとWestern blot法により検証した。その結果、MLO-Y4細胞はAMPK $\alpha$ 1と $\alpha$ 2を発現し、AICAR によるAMPKのリン酸化を認めた。さらに、AICAR による濃度・時間依存的な*Rankl*減少とスクレロスチン遺伝子*Sost*の増加を観察した。加えて、AICARによるRANKL発現の抑制とスクレロスチン発現の増強をWestern blot法により確認した。AMPK $\alpha$ 1 siRNA 処理により*Rankl*は有意に上昇したがmevalonate経路阻害薬シンバスタチンはAICARと同様に、*Rankl*を抑制し、*Sost*を増加させた。mevalonate経路下流分子であるmevalonateあるいはgeranylgeranyl pyrophosphateの同時添加により、AICARによる*Rankl*、*Sost*への影響は解除された。以上により、骨細胞系MLO-Y4細胞において、AMPK活性化によるmevalonate経路阻害はRANKL発現を抑制し、スクレロスチン発現を増強することにより骨リモデリングを制御している可能性が示唆された。但し、AMPK $\alpha$ 1ノックダウンにより*Sost*発現に有意な変化はなく、AICARの*Sost*増加作用が一過性であったことから、骨におけるAMPK活性化は主に骨吸収抑制により骨量増加に働くと考えられる。

本研究の成果は臨床応用への可能性を示し、学位授与に値すると判断した。

最終試験又は学力の確認の結果の要旨

申請者は、骨細胞系MLO-Y4細胞を使用して、AMPK活性化による骨リモデリングの制御機構を分子細胞生物学的手法により明らかにした。そして、この活性化がmevalonate経路を阻害して骨吸収を抑制し骨代謝を改善する可能性を示唆した。予備審査と公開審査では的確に質疑応答し、臨床面での展望も述べ関連知識も豊富であることから学位授与に値すると判断した。(主査: 中村守彦)

申請者は、骨細胞株MLO-Y4を用いて、AMPKがどのように破骨細胞および骨芽細胞に影響を与え得るのかを細胞分子生物学的に解明した。さらに、高コレステロール血症治療薬であるHMG-CoA還元酵素阻害剤シンバスタチンが骨細胞でもAMPK経路を制御しており、骨粗鬆症治療にも応用できる可能性を示した研究で学位授与に値する。(副査: 浦野 健)

申請者は骨細胞のAMPKを介したRANKL発現低下及びmevalonate経路抑制によるsclerostin発現上昇を分子生物学的に示した。これは骨細胞の破骨細胞及び骨芽細胞への骨改変機序を明らかにしただけでなく、骨粗鬆症治療に貢献しうる研究であって学位授与に値する。(副査: 内尾祐司)

(備考) 要旨は、それぞれ400字程度とする。