

論文審査の要旨

報告番号	総研第 521 号	学位申請者	榮樂 菜保子
審査委員	主査	後藤 哲哉	学位 博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	中村 典史	副査 佐藤 友暉
	副査	南 弘之	副査 白方 良典

BMP9 Directly Induces Rapid GSK3 β Phosphorylation in a Wnt-independent Manner through Class I PI3 Kinase-Akt Axis in Osteoblasts.

(BMP9 は骨芽細胞においてクラス I PI3 キナーゼ-Akt 経路を介して Wnt 非依存的に急速な GSK3 β のリン酸化を誘導する)

Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) は強力な骨分化誘導能を有し、歯周炎などにより喪失した歯槽骨や歯周組織の再生に役立つと考えられるが、その作用機序や詳細なメカニズムについては解明されていない。そこで学位申請者は、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞およびマウス頭蓋骨由来初代骨芽細胞 (POB) を用いて、BMP9 刺激によるシグナル伝達分子の活性化を BMP2 刺激時と比較分析することによって BMP9 特異的シグナル伝達の解析を行った。BMP2、-4、-9 刺激後、石灰化を Alizarin-Red 染色、骨分化に関する遺伝子発現のパターンを定量的 RT-PCR 法にて解析した。また、BMP2、-9 刺激後 Western blotting 法にて ERK1/2、p38、JNK1/2、Smad1/5、 β -catenin、GSK3 β の活性化シグナル分子の発現を解析した。さらに PI3K-Akt 阻害剤および BMP9 の co-receptor として知られる Endoglin、Akt-PI3k 経路に関与する GIPC PDZ domain containing family member 1 (GIPC1) の siRNA を用い、BMP9 刺激によって誘導される遺伝子およびシグナル伝達分子への影響を RT-PCR 法および western blotting 法にて解析した。その結果、本研究では以下の知見が明らかにされた。

- 1) MC3T3-E1 において、BMP2、-4、-9 刺激後 BMP9 は最も強い石灰化誘導および ALP、Runx2 の遺伝子発現誘導を示した。
- 2) MC3T3-E1 および POB において、BMP9 刺激は BMP2 刺激時と比較して早期の GSK3 β および Akt のリン酸化を強く誘導した。
- 3) MC3T3-E1 において、BMP2、-9 刺激により Wnt1、Wnt3A の遺伝子発現誘導がみられたが、BMP2 によってより強く誘導された。
- 4) MC3T3-E1 および POB において、BMP9 刺激による早期の GSK3 β のリン酸化はタンパク質分泌阻害、タンパク質合成阻害、転写阻害剤の影響を受けなかった。
- 5) MC3T3-E1 において、Akt、PI3K、Class1 PI3K の各種阻害剤による前処置は、BMP9 刺激による早期の GSK3 β のリン酸化および ALP、Runx2 の遺伝子発現、石灰化の誘導を抑制した。
- 6) MC3T3-E1 において、Endoglin、GIPC1 の siRNA ノックダウン下では、BMP9 刺激による早期の GSK3 β のリン酸化および ALP、Runx2 の遺伝子発現は抑制された。

BMP9 刺激による早期の GSK3 β のリン酸化は PI3K-Akt 経路を介することがわかった。また、この経路は GIPC1 および Endoglin と密接に関係し、BMP9 の強力な骨芽細胞分化誘導に関与している可能性が示された。今後石灰化能を有するヒト歯根膜細胞など他の細胞を用いて骨芽細胞分化におけるシグナル伝達経路の検討が必要である。

本研究は骨芽細胞における BMP9 の骨芽細胞分化を誘導する新規の経路を発見した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。