

|           |                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | 武 田 記 和                                                                                                                                                                                                                       |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                     |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2143 号                                                                                                                                                                                                                  |
| 学位授与の日付   | 平成 11 年 5 月 24 日                                                                                                                                                                                                              |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                                                                       |
| 研究科・専攻    | 医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻                                                                                                                                                                                                           |
| 学位論文題目    | Expression of the <i>c-fos</i> gene induced by parathyroid hormone in the bones of SAMP 6 mice, a murine model for senile osteoporosis に関する研究<br>(老年性骨粗鬆症マウスモデル, SAMP 6 マウス, の骨での副甲状腺ホルモンによって誘発された <i>c-fos</i> 遺伝子の発現に関する研究) |

論文調査委員 (主 査) 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 芹 川 忠 夫 教 授 中 村 孝 志

### 論 文 内 容 の 要 旨

最大骨量が低いことは老年性骨粗鬆症に寄与する重要な要因の1つである。従って、人において骨量を改善させる治療法を開発するにあたり、骨量を決定するメカニズムを動物モデルで解明することは有用なことである。

老化促進モデルマウス Senescence-Accelerated Mouse (SAM) の1系統である SAMP 6 は4～5ヵ月齢で一群の SAM 系統のなかで最も低い最大骨量をとったのち、月齢とともにゆっくりと一定の速度で減少していくので老年性骨粗鬆症のモデルマウスと考えられている。SAMP 6 の最大骨量が低い原因の1つとして、大腿骨前方皮質骨内骨膜側の骨形成の低下が報告されている。また、成長過程において骨髓腔が均等に拡大していくことより、大腿骨後方皮質骨内骨膜側の骨吸収も亢進していると推察されている。別の報告では、尿中ハイドロキシプロリンの増多、血清酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ活性の亢進より SAMP 6 は骨吸収亢進状態にあり、骨形態計測によると、SAMP 6 では破骨細胞数が、一群の SAM 系統のなかで最も高い最大骨量を示す SAMP 2 より多いことが示されている。

カルシウム調節ホルモンの1つである副甲状腺ホルモン (PTH) の投与により、ラットの骨組織ではプロトオンコジーンである *c-fos* がまず骨芽細胞、引き続いて紡錘形の間質細胞、破骨細胞において発現されると報告されている。また、種々の報告により、PTH によって誘発される *c-fos* は骨形成のみならず、骨吸収にも重要な役割を果たしていることが示されている。

本研究では、最大骨量が形成されるまでの2ヵ月齢の SAMP 6 雄マウスに PTH (60 µg/kg) を皮下注射後、腎臓、大腿骨および脛骨を採取し生理食塩水で骨と骨髓を分離した。ノーザンブロット解析で *c-fos* mRNA の発現量を調べ、また、免疫組織化学により骨における c-Fos 蛋白の局在についても検討を行った。対照として SAMP 2 を用いた。

骨では *c-fos* mRNA の発現量は PTH 投与後 30 分でピーク値をとり、その後 SAMP 2 では速やかに減少するが、SAMP 6 ではその減少が遷延化する傾向にあり、1時間で SAMP 2 に比べ有意に発現が高かった。骨髓では有意な増加あるいは減少は認められず、SAMP 2、SAMP 6 間にも有意な差は認められなかった。PTH 受容体が存在する腎臓での *c-fos* の発現についても検討したが、腎臓での発現は骨よりも低く、SAMP 6 の方が低い傾向にあった。したがって、骨でみられた現象は組織特異的と考えられる。c-Fos の免疫染色の結果、SAMP 6 の皮質骨で一部の骨細胞および骨芽細胞の核に c-Fos 蛋白を認め、PTH 投与後、c-Fos 蛋白陽性の骨細胞が増加していた。

骨細胞は骨内でのコミュニケーションシステムとしての役割の可能性をもっており、また、単離された骨細胞に PTH 受容体が認められたという報告もある。本研究により、PTH によって骨に誘導される *c-fos* mRNA の発現には骨細胞が関与していることが示唆された。また、SAMP 6 では対照マウスより PTH によって骨に誘導された *c-fos* mRNA の発現量の減少が遅延していたことにより、コミュニケーションシステムがより長く活性化され、骨のリモデリング、あるいは、モデリ

ングの過程が影響を受け、皮質骨の骨量減少が生じた可能性が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

Transgenic mouse, knockout mouse の結果より、*c-fos* は成長期の骨形成、骨吸収の過程で重要な役割を果たしている。副甲状腺ホルモン (PTH) は骨組織の細胞に *c-fos* を発現させる。SAMP 6 は最大骨量が低く、骨吸収の亢進より PTH に対する反応性の異常が疑われる。本研究では、成長期の 2 ヶ月齢雄マウスに PTH を投与後、骨 (大腿骨・脛骨)、骨髄および腎臓での *c-fos* mRNA の発現および骨での c-Fos 蛋白の局在が検討された。

骨での *c-fos* mRNA の発現は PTH 投与後 30 分でピークに達した後、高い最大骨量を示す SAMP 2 では速やかに減少するが、SAMP 6 では減少が遅延し 1 時間で SAMP 2 に比べ有意に発現が高かった。骨髄では両系統とも有意な変化は認められず、系統差もなかった。PTH 受容体が存在する腎臓での *c-fos* の発現は骨よりも低く、SAMP 6 の方が低い傾向にあり、骨でみられた現象は組織特異的であった。c-Fos 蛋白は大腿骨皮質骨で一部の骨細胞および骨芽細胞の核に認め、PTH 投与後 c-Fos 蛋白陽性の骨細胞が増加し、骨で誘導される *c-fos* mRNA の発現に骨細胞の関与が明らかにされた。

以上の研究は骨量を決定するメカニズムの解明に貢献し、老年性骨粗鬆症で骨量を改善させる治療法の開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 3 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。