

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 安藤 瑛香

学位論文題目 Osteocalcin promotes proliferation, differentiation and survival of PC12 cell (オステオカルシンはPC12細胞の増殖・分化・生存を促進する)

審査委員 (主査) 有吉 渉



(副査) 松原 琢磨



(副査) 小野 堅太郎



学位審査結果の要旨

主要な非コラーゲン性の骨基質タンパク質の1つオステオカルシン (OC) は臍臓や脂肪細胞に作用し、全身の糖・エネルギー代謝の調節に関わることが明らかとされている。一方でOCは、学習や記憶の発達をサポートし、マウスにおける不安様行動を抑制することが報告されている。神経細胞では、グルタミン酸残基がカルボキシル化されていないOC (GluOC) 認識受容体であり、全身に広く分布するGPRC6Aではなく、GluOCおよびグルタミン酸残基がカルボキシル化されたOC (GlaOC) の両者を認識可能なGタンパク質共役型受容体GPR158が発現すると考えられているが、ニューロンに対するこれらの受容体を介したOCの直接的な作用については明らかにされていない。そこで申請者らは、神経細胞分化モデルで頻用されるラット褐色細胞腫細胞株PC12細胞を用いて、神経突起伸長、細胞増殖および酸化ストレス応答に及ぼすOCの影響について検討した。

PC12細胞より総RNAを抽出し、RT-PCR法によってmRNA発現を確認したところ、GPRC6Aの発現がほとんど観察されない一方で、GPR158は高発現していることが示された。同細胞をOCで刺激するとERKタンパクの一過性のリン酸化が誘導され、PC12には機能的なOC受容体が発現していることが確認された。PC12細胞をGlaOCおよびGluOCそれぞれの存在下で培養したところ、いずれのOC刺激群でも細胞増殖が有意に亢進した。次に神経成長因子(NGF)存在下でGluOC、GlaOCをそれぞれ添加し、PC12細胞の神経細胞様細胞への分化誘導を調べたところ、いずれのOCもNGF誘導性の神経細胞様突起の伸長を促進することが明らかとなった。さらに過酸化水素処理による酸化ストレス誘導型の細胞死に対するOCの効果を調べるため、72時間NGFで神経細胞様細胞へ分化誘導したPC12細胞をGluOCおよびGlaOC添加培地で24時間処理後に過酸化水素処理を行ったところ、いずれのOCも過酸化水素処理後のPC12細胞の生存率を回復させることが明らかとなった。

以上の結果から、OCがPC12細胞においてGPR158への直接的な結合を介して、細胞の増殖や分化、酸化ストレスに対する生存に影響を与え、保護的作用を発揮する可能性があることが示唆された。

本研究内容について申請者の安藤氏に対し、個々の実験手法、結果の解釈および当該分野における意義と臨床応用への展望や今後の課題等について主査と2名の副査による試問を行った。研究デザインや結果の解釈に対して改善すべき点の指摘はあったが、質問に対して、概ね適切な回答が得られた。今後、OCの神経細胞への作用に関する詳細な分子機構の解明が、関連疾患に対する病態解明や治療法の提案に寄与することが期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。