

## 学位審査結果報告書

学位申請者氏名 安田 和真

学位論文題目 Protein phosphatase 1 regulatory subunit 18 suppresses the transcriptional activity of NFATc1 via regulation of c-fos.

審査委員 (主査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 正木 千尋 (署名) 正木千尋

(副査氏名) 有吉 渉 (署名) 有吉 渉

### 学位審査結果の要旨

破骨細胞分化に必須の転写因子 NFATc1 は RANKL 刺激を受けた後、脱リン酸化されることによって核内に移行する。核内に移行した NFATc1 は転写因子 c-fos と複合体を形成して転写活性を発揮し、NFATc1 自身を含め、TRAP、Cathepsin K などの破骨細胞分化や骨吸収に必要な分子の発現を誘導する。安田氏が研究に従事する研究室では、これまでホスファターゼ結合分子 PPP1r18 が破骨細胞の細胞骨格を制御して骨吸収機能を抑制し、さらに NFATc1 の発現を抑制する可能性を示してきた。そこで本研究で申請者の安田氏らは、破骨細胞分化において PPP1r18 が NFATc1 を制御する機構を検討した。

破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞に PPP1r18 を過剰発現させたところ、RANKL に誘導される TRAP 陽性多核細胞数が減少した。PPP1r18 と NFATc1 とを共発現すると NFATc1 標的遺伝子の mRNA 量が減少した。NFAT 応答エレメントを用いたレポーターアッセイでは、PPP1r18 は NFATc1 に誘導されるルシフェラーゼ活性を抑制した。ホスファターゼ結合部位を変異させた PPP1r18 は NFATc1 の機能を抑制しなかったため、この抑制効果にはホスファターゼ活性を必要とすることが分かった。次に PPP1r18 のターゲット因子を検討した。PPP1r18 を過剰発現させると、リン酸化の影響を受けない変異体 NFATc1 も抑制されたのに対し、RANKL 刺激によって誘導された c-fos のリン酸化とそれとともに核内に移行する c-fos 量を減少させた。また、PPP1r18 による NFATc1 の転写活性と破骨細胞分化の抑制効果は、c-fos の過剰発現により解除された。以上の結果は、ホスファターゼ結合分子 PPP1r18 は c-fos を脱リン酸化することで NFATc1・c-fos 複合体の転写活性を制御し、破骨細胞分化を抑制することが示唆している。

本研究内容について申請者の安田氏に対し、実験の手技や結果の解釈、想定している臨床への応用方法等について主査と2名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究成果は、破骨細胞の分化や機能を制御する因子として独自に見いだした分子による骨代謝調節の仕組みの理解を深め、骨代謝および炎症反応の制御による関連疾患の治療戦略開発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。