

論文内容の要旨

申請者氏名 Anton Bahtiar

Osteoclasts are multinucleated giant cells with bone-resorbing activity and play a key role in bone remodeling in conjunction with osteoblasts. It is well established that receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) plays a central role in osteoclastogenesis through its cognate receptor activator of NF- κ B (RANK). Our group previously found, using an *in vitro* model of osteoclastogenesis consisting of mouse cells and recombinant RANKL, that the expression of the transcription factor NFAT2 (NFATc1) induced by stimulation with RANKL is essential for the formation of mature osteoclasts. We subsequently identified L-Ser as a key component for the phenomenon. These findings implied a specific role of L-Ser in osteoclasts and at the same time, suggested the possibility of using certain analogue(s) for suppressing osteoclastogenesis through the downregulation of NFAT2 expression.

In this study, I systematically searched for L-Ser analog(s) with suppressive activity and less toxicity. I screened about a hundred substances and consequently identified a novel serine analog, H-Ser(tBu)-OMe · HCl (or O-t.-Butyl-L-serine methyl ester hydrochloride), which suppressed osteoclastogenesis *in vitro* by downregulating RANK expression as well as its localization in membrane lipid raft. The analog appeared to inhibit the production of 3-ketodihydrosphingosine by serine palmitoyltransferase (SPT), and the addition of lactosylceramide rescued the osteoclast formation. The analysis using the analog thus shed light on the significance of serine metabolism through SPT in osteoclastogenesis. Moreover, this effect was confirmed *in vivo*; namely, administration of the analog appeared to increase bone density in control mice and to prevent high bone turnover in soluble RANKL-treated mice. Therefore, the findings may be useful for developing a novel therapeutic tool for bone diseases such as osteoporosis which is known to be accelerated by enhanced bone resorbing activity and/or the formation of osteoclasts.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Anton Bahtiar

破骨細胞は骨吸収を担う細胞で、骨形成を担う骨芽細胞とともに骨の形成および骨代謝制御の中心的役割を担っている。これら 2 種類の細胞間の働きのバランスが崩れると様々な疾患を引き起こす。例えば、骨吸収活性の異常亢進は骨粗鬆症の要因となる。従って、現在骨粗鬆症治療に用いられている薬品は、破骨細胞の形成あるいは活性を抑制するものが殆どである。

申請者は、破骨細胞分化のキーレギュレーターである転写因子 NFAT2 の発現には非必須アミノ酸 L-セリンが必須であるとの知見に基づき、その L-セリンの働きを抑制する分子を利用すれば、破骨細胞の形成ひいては骨吸収活性そのものを抑制することが可能となり、骨粗鬆症などの疾患にも応用できる技術となりうるのではないかと考え、相当する分子の探索を行い、該当する分子として、3 種類の L-セリンアナログを同定することに成功した。さらに、その分子の作用メカニズムの解析を行い、セリン代謝系の初発酵素であるセリン・パルミトイル CoA 転移酵素の活性を抑制することによりセリン代謝産物の産生を抑制することが、その作用機序の主要因であることも見出した。さらに、このようにして破骨細胞分化抑制分子として見出した分子が、*in vivo* すなわち生体内においても同様の効果を発揮するかどうかを、マウスを用いて検証した。その結果、この分子を投与したマウスにおいて、骨吸収を示す諸計測値の低下、同時に骨量など骨形成活性をしめす諸指標は増加が確認された。さらに、骨粗鬆症モデルマウスを作成し、当該分子の投与効果を検証したところ、骨密度の回復を確認することが出来た。

このように、申請者は、本研究において、目的とする分子の同定、その作用機序の解明、その活性を *in vivo* で検証するという、一連の研究において優れた研究成果を挙げている。

以上のように、本論文は破骨細胞の分化制御機構の一端を明らかにするとともに、その知見に基づき新しい骨代謝疾患治療法の可能性を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。