

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 辻 直也

本論文では、破骨細胞の分化・成熟に伴って **Dennd2A** の発現が上昇することに着目し、機能未知因子である **Dennd2A** の全身性遺伝子欠損マウスの作出および骨表現型解析を行うことで、骨代謝制御機構における **Dennd2A** の生体内機能を解明した。

破骨細胞は骨吸収を担う主要な骨細胞種の一つであり、正常な骨代謝及び骨量維持に必須な役割を果たしている。破骨細胞は造血幹細胞由来のマクロファージ系前駆細胞から分化し、細胞融合により多核成熟化する細胞である。多核成熟化した破骨細胞は、**Cathepsin K** などのプロテアーゼ群や酸を分泌することで骨吸収を行う。破骨細胞の分化や機能制御の概要は明らかにされつつあるものの、骨量調節における破骨細胞分化・機能を制御する因子群の全容は明らかにされておらず、そのメカニズムも不明な点が多いのが現状であった。

本論文では、破骨細胞の分化や機能制御に関与することが知られる **Small GTPase** と **GEF** に着目し、**GEF** 活性をもつ **Dennd2A** が骨代謝調節機構においてどのような意義をもつか明らかにするために、遺伝子欠損マウスの作出およびその表現型解析を行った。

Dennd2A 遺伝子欠損マウスの作出

本論文では、**Cre/loxP** システムを用いることでより汎用性の高い **flox** マウスの作出に成功した。**Dennd2A flox** マウスと、目的の組織でのみ **Cre recombinase** を発現するトランスジェニックマウスを掛け合わせることで、組織特異的な **Dennd2A** マウスの作出が簡単に行える。今後、全身だけでなく、様々な組織特異的 **Dennd2A** 欠損マウスを作出することで、より詳細な **Dennd2A** の生理機能の解明につながることを期待される。

Dennd2A 遺伝子欠損マウスの表現型解析

Dennd2A は骨量調節因子として知られる **Vav 3** と同様に **GEF** 活性をもつ **DENN/MADD** ドメインを有するタンパク質であり、成熟破骨細胞に強く発現していることから、破骨細胞において重要な機能をもつ因子であることが示唆された。実際に全身性 **Dennd2A** 欠損マウスの骨表現型解析により、**Vav 3 KO** マウスとよく似た骨表現型を呈することが明らかになった。

Dennd2A^{-/-} 雌マウスは対照群と比較して **X** 線透過性の低下を認め、大腿骨骨密度の有意な増加を示す。この骨量増加は多核成熟破骨細胞の減少による骨吸収不全を主原因とするものであることが、骨形態計測と破骨初代培養細胞を用いた *in vitro* 解析から明らかとなった。

以上、本論文では全身性 **Dennd2A** 遺伝子欠損マウスを作出し、その骨表現型を解析することにより、骨代謝制御機構における **Dennd2A** の生体内機能の一部が、破骨細胞が担う骨吸収を正に制御することによる骨量調節への寄与であり、**Dennd2A** が新規骨量調節因子であることを解明することが出来た。今後、更に詳細な分子メカニズムが解明されれば、骨量調節における破骨細胞分化・機能を制御する仕組みの全容が明らかになることが期待でき、高齢化社会を迎え、骨粗鬆症患者の多い日本の医療事情を鑑みても極めて重要な研究であると考えられる。なお、本論文はいずれも論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。