

# 主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	弘 實 透
主 論 文 題 名				
Conditional abrogation of <i>Atm</i> in osteoclasts extends osteoclast lifespan and results in reduced bone mass (破骨細胞特異的にATMを欠失した遺伝子改変マウスは破骨細胞の延命により骨量の減少を来す)				
( 内 容 の 要 旨 )				
<p>Ataxia telangiectasia mutated (ATM) は毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子であり、DNA修復や細胞の生存に重要な機能を担うことが知られている。<i>Atm</i>欠失マウスでは、性腺の低形成を来し、二次的に破骨細胞による骨吸収活性が亢進する。その結果、本マウスでは閉経後骨粗鬆症に類似した表現型を呈することが報告されているが、破骨細胞におけるATMの内因的な機能の報告はない。予備的検討にて、破骨細胞分化に伴いATMの活性が上昇することを見出し、ATMが破骨細胞の機能に関与していることが示唆された。そこで、本研究では、破骨細胞特異的にATMを欠失させた遺伝子改変マウス (<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウス) を作成し、破骨細胞におけるATMの機能解明を試みた。</p> <p><i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスは正常に生まれ、肉眼的に明らかな異常を呈さなかった。しかし、<math>\mu</math>CTにて骨微小形態の解析を行ったところ、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスは対照マウスと比較し、有意に骨量が減少していることが明らかとなった。骨組織学的解析では、二次海面骨における骨形成・骨吸収パラメーターに両群で顕著な差を認めなかったが、<math>\mu</math>CT解析と同様に、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスにおいて骨量の減少が確認された。より詳細に組織学的解析を行ったところ、一次海面骨と二次海面骨の境界領域において、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスでは対照マウスと比較し、破骨細胞数が有意に上昇していることが明らかとなった。この所見から、ATMの欠失によって破骨細胞分化が促進するものと推測した。そこで、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスおよび対照マウスから骨髓細胞を採取し、<i>in vitro</i>にて破骨細胞形成能の比較を行った。しかしながら、ATM発現の有無による破骨細胞形成の違いは観察されなかった。次に、ATMが破骨細胞の生存に関与する可能性を考え、破骨細胞の機能維持に必須であるM-CSFおよびRANKLを枯渇させた状態で、成熟破骨細胞を培養し、その生存率の評価を行った。すると興味深いことに、ATMを欠損した破骨細胞は対照群に比較して、アポトーシスに抵抗性であり、生存が著明に延長していることが明らかとなった。また、本所見を裏付けるように、<i>in vivo</i>においても、アポトーシスの指標となるTUNEL染色陽性の破骨細胞の頻度が、対照マウスと比較し、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスでは有意に低下していることが観察された。破骨細胞の生存はNF-<math>\kappa</math>Bの活性に大きく依存していることから、<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスおよび対照マウス由来の破骨細胞におけるNF-<math>\kappa</math>B活性を検討したところ、ATMを欠損した破骨細胞では対照群に比較して、NF-<math>\kappa</math>B複合体を構成するp65蛋白質の核内移行が亢進しており、NF-<math>\kappa</math>Bの下流分子の転写活性が上昇していることが明らかとなった。</p> <p>以上の結果から、ATMは破骨細胞において、NF-<math>\kappa</math>Bの負の制御因子であり、アポトーシスの誘導因子の一つとして機能することが示唆された。また<i>Atm</i><sup>Ctsk</sup>マウスで観察された骨量の低下は、破骨細胞の分化亢進ではなく、破骨細胞の延命による骨吸収の累積的な増加に起因したものと推測された。</p>				