

氏 名	小崎 剛志		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	歯 学		
学位授与番号	博甲第7450号		
学位授与の日付	令和 8年 3月 25日		
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	エピジェネティック制御因子 <i>Pcgfl</i> の破骨細胞分化シグナル伝達に与える影響		
論文審査委員	秋山 謙太郎 教授	西田 崇 准教授	天野 克比古 准教授

学位論文内容の要旨

【緒言】骨粗鬆症は破骨細胞による過度な骨吸収のため、骨折のリスクが増加した状態であり、その病態解明は健康寿命の延伸に不可欠である。破骨細胞は血球系の前駆細胞から分化し、その過程は macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) による生存維持刺激および receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand (RANKL) 依存的シグナルによる分化誘導にて制御される。RANKL 刺激により phosphoinositide 3-kinase (PI3K) - Protein kinase B (Akt) 経路や nuclear factor- κ B (NF- κ B) 経路が活性化され、破骨細胞分化のマスター転写因子 nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1 (NFATc1) が誘導される。近年、破骨細胞の分化にはエピジェネティックな制御機構の関与も示唆されており、ヒストン修飾を介して遺伝子発現を抑制するエピジェネティック制御因子群である Polycomb 群タンパク質の構成因子である *Pcgfl* の破骨細胞分化における役割が注目されている。破骨細胞分化は M-CSF や RANKL によるシグナル伝達を介して進行することから、これらのシグナル経路に *Pcgfl* が関与する可能性が考えられるが、*Pcgfl* とシグナル伝達との関連は未だ解明されていない。本研究では、*Pcgfl* の M-CSF および RANKL シグナルのモジュレーターとしての役割に着目し、破骨細胞分化とその機能に与える影響を検討した。

【方法】LysM-Cre を用いてマクロファージ特異的に *Pcgfl* を欠損した条件的ノックアウトマウス (*Pcgfl* cKO マウス) を作製した。骨髄由来マクロファージ (mBMMs) を単離し、M-CSF および RANKL 刺激下で破骨細胞分化を誘導した。破骨細胞の分化過程における *Pcgfl* の産生変動を Western blot 法で調べたのち、*Pcgfl* 過剰発現系および *Pcgfl* cKO 破骨細胞を用いて TRAP 染色による破骨細胞形成能、アクチンリング形成、骨吸収ピットアッセイによる骨吸収能を評価した。さらに、RANKL または M-CSF 刺激に対するシグナル応答を Western blot 解析により検討した。

【結果】M-CSF および RANKL 刺激下での破骨細胞の分化に伴い、*Pcgfl* は NFATc1 発現に続いて発現量の亢進が認められた。*Pcgfl* 過剰発現破骨細胞では TRAP 陽性多核破骨細胞数が有意に増加し、アクチンリング形成および骨吸収能亢進を認めた。一方、*Pcgfl* cKO 破骨細胞では破骨細胞形成および骨吸収能が著しく低下した。シグナル解析では、*Pcgfl* cKO 由来 mBMMs において RANKL 刺激に伴う inhibitor of NF- κ B alpha (I κ B α) および Akt のリン酸化が低下したが、M-CSF 刺激に対するシグナル応答には影響を認めなかった。

【考察】本研究は、*Pcgfl* が RANKL 依存的なシグナル伝達に影響を与え、破骨細胞分化およびその機能を正に制御することを示唆している。従来、エピジェネティック因子として捉えられていた *Pcgfl* が

RANKL シグナリングのモジュレーターとして機能することを明らかにしており、本研究の成果は新規性に富むものと考えられる。

また **Pcgfl** による病的な骨吸収を制御する新たな戦略の開発に繋がる興味深い研究成果であり、今後の更なる作用機序の解明が期待される。

論文審査結果の要旨

【緒言】骨粗鬆症は破骨細胞による過度な骨吸収のため、骨折のリスクが増加した状態であり、その病態解明は健康寿命の延伸に不可欠である。破骨細胞は血球系の前駆細胞から分化し、その過程は M-CSF および RANKL 依存的シグナルによって制御される。RANKL 刺激により nuclear factor- κ B (NF- κ B) や phosphoinositide 3-kinase (PI3K)–Akt 経路が活性化され、破骨細胞分化のマスター転写因子 NFATc1 が誘導される。近年、破骨細胞の分化にはエピジェネティックな制御機構の関与も示唆されており、ヒストン修飾を介して遺伝子発現を抑制するエピジェネティック制御因子群である Polycomb 群タンパク質の構成因子である *Pcgfl* の破骨細胞分化における役割が注目されている。破骨細胞分化は M-CSF や RANKL によるシグナル伝達を介して進行することから、これらのシグナル経路に *Pcgfl* が関与する可能性が考えられるが、*Pcgfl* とシグナル伝達との関連は未だ解明されていない。本研究では、*Pcgfl* の M-CSF および RANKL シグナルのモジュレーターとしての役割に着目し、破骨細胞分化とその機能に与える影響を検討した。

【方法】LysM-Cre を用いてマクロファージ特異的に *Pcgfl* を欠損した条件的ノックアウトマウス (*Pcgfl* cKO マウス) を作製した。骨髄由来マクロファージ (mBMMs) を単離し、M-CSF および RANKL 刺激下で破骨細胞分化を誘導した。破骨細胞の分化過程における *Pcgfl* の産生変動を Western blot 法で調べたのち、*Pcgfl* 過剰発現系および *Pcgfl* cKO 破骨細胞を用いて TRAP 染色による破骨細胞形成能、アクチンリング形成、骨吸収ピットアッセイによる骨吸収能を評価した。さらに、RANKL または M-CSF 刺激に対するシグナル応答を Western blot 解析により検討した。

【結果】M-CSF および RANKL 刺激下での破骨細胞の分化に伴い、*Pcgfl* は NFATc1 発現に続いて発現量の亢進が認められた。*Pcgfl* 過剰発現破骨細胞では TRAP 陽性多核破骨細胞数が有意に増加し、アクチンリング形成および骨吸収能亢進を認めた。一方、*Pcgfl* cKO 破骨細胞では破骨細胞形成および骨吸収能が著しく低下した。シグナル解析では、*Pcgfl* cKO 由来 mBMMs において RANKL 刺激に伴う I κ B α および Akt のリン酸化が低下したが、M-CSF 刺激に対するシグナル応答には影響を認めなかった。

【考察】本研究は、*Pcgfl* が RANKL 依存的なシグナル伝達に影響を与え、破骨細胞分化およびその機能を正に制御することを示唆している。従来、エピジェネティック因子として捉えられていた *Pcgfl* が RANKL シグナリングのモジュレーターとして機能することを明らかにしており、本研究の成果は新規性に富むものと考えられる。また *Pcgfl* による病的な骨吸収を制御する新たな戦略の開発に繋がる興味深い研究成果であり、今後の更なる作用機序の解明が期待される。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。