

Title	Estrogen Inhibits Vascular Calcification via Vascular RANKL System : Common Mechanism of Osteoporosis and Vascular Calcification
Author(s)	大宰, マリアナ 今日美
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58116">https://hdl.handle.net/11094/58116</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

**Background:** Arterial calcification and osteoporosis are associated in postmenopausal women. RANK (the receptor activator of nuclear factor  $\kappa$ B), RANKL (RANK ligand), and osteoprotegerin are key proteins in bone metabolism and have been found at the site of aortic calcification. The role of these proteins in vasculature, as well as the contribution of estrogen to vascular calcification, is poorly understood.

**Objective:** To clarify the mechanism of RANKL system to vascular calcification in the context of estrogen deficiency.

**Methods and Results:** RANKL induced the calcification inducer bone morphogenetic protein-2 by human aortic endothelial cells (HAEC), and decreased the calcification inhibitor matrix Gla protein (MGP) in human aortic smooth muscle cells (HASMC), as quantified by real-time PCR and Western blot analysis. RANKL also induced bone-related gene mRNA expression and calcium deposition (Alizarin red staining) followed by the osteogenic differentiation of HASMC. Estrogen inhibited RANKL signaling in HAEC and HASMC mainly through estrogen receptor  $\alpha$ . Apolipoprotein E-deficient mice fed with Western high fat-diet for 3 months presented atherosclerotic calcification (Oil red and Alizarin red staining) and osteoporosis (microcomputed tomography analysis) after ovariectomy and increased expression of RANKL, RANK and osteopontin in atherosclerotic lesion as detected by *in situ* hybridization. Estrogen replacement inhibited osteoporosis and the bone morphogenetic protein osteogenic pathway in aorta by decreasing phosphorylation of smad-1/5/8 and increasing MGP mRNA expression.

**Conclusion:** RANKL contributes to vascular calcification by regulating bone morphogenetic protein-2 and MGP expression, as well as bone-related proteins, and is counteracted by estrogen in a receptor dependent manner.

論文審査の結果の要旨

血管の加齢変化として動脈硬化に加えて血管の石灰化も進行するが、近年この血管の石灰化には血管局所での骨形成分子が関与していることが明らかとなった。我々はこの骨粗鬆症と血管石灰化の両疾患の病態形成に共通する分子機序として、RANKL (receptor activator for Nuclear Factor kappa B ligand / osteoclast differentiation factor : ODF) システムに着目した。

RANKLシステムは骨粗鬆症病態形成の中心をなすシステムであり、骨芽細胞で主として産生されて破骨細胞を活性化して骨粗鬆症に導く分子である。リガンドであるRANKLに対し、RANKとデコイ型受容体のOPG (osteoprotegerin) の2つの受容体が存在し、その破骨細胞の活性化を調節していることが知られている。OPG欠損マウスではRANKLが過剰に刺激され、骨粗鬆症と血管石灰化の両方を同時に呈するフェノタイプを示した。血管細胞においてもこれらのRANKL関連分子は発現しており、マウスでの検討では血管石灰化に伴いこれらの分子の発現が上昇していた。培養血管内皮細胞にRANKLを添加すると骨形成分子であるBMP (bone morphogenetic protein)-2が増加する一方で石灰化の阻害因子であるMGP (Matrix Gla Protein) が減少することを見出し、培養血管平滑筋細胞を骨芽細胞分化誘導培地で骨分化させる実験系にRANKLを添加すると骨分化が助長されることからRANKLは血管平滑筋の石灰化を促す可能性が示唆された。また、このRANKLによる骨分化作用はエストロゲン投与によって抑制された。我々はさらに血管石灰化と骨粗鬆症を併発するマウスモデルとしてApoE欠損マウスの卵巣を摘出するモデルを確立した。このモデルでは血管局所のRANKLシステム分子の発現増加を伴う血管石灰化を呈しており、エストロゲン持続投与により骨粗鬆症と血管石灰化の両方の病態が抑制された。

以上の研究成果は学位論文に十分に値する内容である。

【22】

氏名	おおさか マリアナ 今日美
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 24173 号
学位授与年月日	平成22年9月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Estrogen Inhibits Vascular Calcification via Vascular RANKL System: Common Mechanism of Osteoporosis and Vascular Calcification (エストロゲンは血管のRANKLシステムを介して石灰化を抑制する。骨粗鬆症と血管石灰化の共通基盤分子)
論文審査委員	(主査) 教授 森下 竜一  (副査) 教授 小室 一成 教授 祖父江憲治