The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Anti-NF-κB peptide derived from nuclear acidic protein attenuates ovariectomy-induced osteoporosis in mice
Author(s)	髙見, 賢司
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/95955
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	高見　賢司
論文題名 Title	Anti-NF-κB peptide derived from nuclear acidic protein attenuates ovariectomy-induced osteoporosis in mice (核内酸性タンパク質由来の新規抗NF-κBペプチドが卵巣摘出マウス（閉経後骨粗鬆症モデルマウス）における骨粗鬆症の進行を抑制した)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

Nuclear factor-kappa B (NF-κB) は、破骨細胞の分化を促進し、骨芽細胞の分化を抑制することにより骨粗鬆症の発症に重要な役割を果たす転写因子である。Macromolecular translocation inhibitor II (MTI- II) という核酸タンパク質がNF-κB シグナルカスケードを下流で阻害することが知られているが、本研究の目的は、同タンパクを用いて新規低分子抗 NF-κB ペプチドを作成し、それにより卵巣摘出マウス（閉経後骨粗鬆症モデルマウス）における骨粗鬆症の進行を抑制しうるのか、分子機序を含めて明らかとすることである。

〔方法(Methods)〕

MTI- IIの酸性領域から6アミノ酸を抽出し、抗NF-κB作用をもつペプチドを選択した。そして、細胞内移行を促すために8個のアルギニン鎖を付加し、新規低分子抗 NF-κB ペプチド（6A-8R）を作成した。8週齢の卵巣摘出マウスに6A-8Rを術後4週間腹腔内投与し、大腿骨サンプルを回収した。骨粗鬆症の進行についてCTで評価を行い、また組織染色・骨形態計測を行った。In vitroでは破骨細胞において骨吸収能の評価を行い、破骨細胞と骨芽細胞を用いて6A-8Rの細胞毒性についても評価した。また骨芽細胞では骨形成能も評価した。骨細胞においてはスクレロスチン分泌能について評価を行った。

〔成績(Results)〕

6A-8Rにより卵巣摘出による骨量低下が抑制された。また組織染色では破骨細胞数の減少や骨芽細胞数の増加、スクレロスチンを分泌する骨細胞数の減少を認めた。骨形態計測では破骨細胞数の減少や骨吸収エリアの減少を認めた。6A-8Rによる合併症、例えば肝臓と腎臓におけるアポトーシスの亢進や腫瘍形成などは認めなかった。In vitroでは破骨細胞において、6A-8Rにより分化の抑制、骨吸収能低下を認めた。またCathepsin Kやtartrate-resistant acid phosphatase (TRAP)などの分化マーカーの遺伝子発現が抑制されていた。またnuclear factor of activated T cells 1 (NFATc1)やc-Fosといった分化に必須の転写因子のタンパク質発現が抑制されていた。6A-8RによりNF-κBの核内移行は抑制されておらず、またNF-κBのDNA結合も抑制していないことを確認した。骨芽細胞においては、6A-8RによりalkalineⅠphosphatase (ALP)染色やAlizarin染色といった分化を確認する染色においていずれも分化が促進していることを確認した。破骨細胞では治療濃度（3 mg/ml）で細胞毒性を認めたが骨芽細胞では認めなかった。骨細胞においては、6A-8Rにより破骨細胞分化を促進し、骨芽細胞分化を抑制するスクレロスチン遺伝子発現の低下を認めた。myocyte enhancer factor 2C (MEF2C)とMEF2Dのタンパク質発現が抑制されていたため関連性が示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

6A-8Rは破骨細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化は促進し、骨細胞からのスクレロスチン分泌を抑制することで卵巣摘出マウスにおける骨量低下を予防したと考えられ、アンカップリング機序を持つ新たな骨粗鬆症薬の候補となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　髙見　賢司

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	岡田誠司
	副　査	大阪大学教授	妻木範行
	副　査	大阪大学特任教授	田中啓之

論文審査の結果の要旨

Nuclear factor-kappa B (NF-κB) は、破骨細胞の分化を促進し、骨芽細胞の分化を抑制することにより骨粗鬆症の発症に重要な役割を果たす転写因子である。Macromolecular translocation inhibitor II (MTI- II) という核酸タンパク質がNF-κB シグナルカスケードを下流で阻害することが知られている。MTI- IIの活性領域から6アミノ酸を抽出し、新規低分子抗 NF-κB ペプチド (6A-8R) を作成した。8週齢の卵巣摘出マウスに6A-8Rを術後4週間腹腔内投与したところ、卵巣摘出による骨量低下が抑制された。組織染色では破骨細胞数の減少や骨芽細胞数の増加、スクレロスチンを分泌する骨細胞数の減少を認めた。In vitroでは6A-8Rにより破骨細胞においては分化抑制、骨芽細胞においては分化促進、骨細胞においてはスクレロスチン遺伝子発現の低下を認めた。
アンカップリング機序を持つ新たな骨粗鬆症薬の候補となる6A-8Rの合成と作用機序の解明を行ったことは学位の授与に値すると考えられる。