HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Sclerostin enhances adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	浮田, 万由美
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第12141号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/61892
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Mayumi_Ukita_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　浮田　万由美

審査担当者　　主査　　教授　　山口　泰彦
副査　　教授　　田村　正人
副査　　教授　　網塚　憲生

学 位 論 文 題 名

Sclerostin enhances adipocyte differentiation in 3T3-L1 cells

（Sclerostin は 3T3-L1 細胞における脂肪細胞分化を促進する）

審査は，主査および副査が一堂に会し，論文提出者が論文内容の要旨を説明しながら，その内容について審査担当者が口頭試問を行った。学位申請者からは以下の内容の論述がなされた。

Sclerostin (*Sost* gene product) は骨細胞が産生する分泌タンパク質であり，*Sost* 変異によって骨形成が促進し骨量が増加することから骨形成を負に制御する因子であること，また Wnt 経路のシグナル伝達を抑制することが知られている。近年の臨床研究で，血中 sclerostin 濃度と脂質代謝との相関が報告され，骨細胞が産生する因子が脂肪細胞に作用する可能性が示唆されているが，その詳細は明らかではない。そこで，本研究は脂肪細胞分化のモデルとして確立しているマウス 3T3-L1 細胞培養系を用いて，sclerostin の脂肪細胞分化に及ぼす効果とその機構を明らかにすることを目的とした。

3T3-L1 細胞に組み換え sclerostin タンパクを加えて培養したところ，細胞内の脂肪滴蓄積と脂肪細胞分化関連 mRNA の発現が増加し，脂肪細胞への分化が促進した。Wnt3a と sclerostin の両方を加えて培養したところ，sclerostin は Wnt3a による脂肪細胞の分化抑制を減じた。3T3-L1 細胞では Wnt co-receptor の LRP5/6 が発現しており，sclerostin は LRP5/6 を介して作用した可能性が考えられた。

次に，sclerostin が脂肪細胞分化を促進する機構について検討した。sclerostin 添加により，3T3-L1 細胞の細胞増殖やアポトーシス誘導に変化は見られなかったが，脂肪細胞分化初期において転写因子 C/EBPβ の発現が増加した。また，sclerostin は TAZ (transcriptional co-activator with PDZ binding protein)の活性を抑制した。TAZ をノックダウンした 3T3-L1 細胞では脂肪細胞の分化が促進し，sclerostin の添加は分化をさらに促進した。一方，TAZ を過剰に発現させたとこ

ろ sclerostin による脂肪細胞分化促進は見られなかった。これらの結果から，sclerostin は C/EBPβ の発現促進および TAZ の活性制御により 3T3-L1 細胞における脂肪細胞の分化を促進させる，という機構が考えられた。

本研究により，骨細胞が産生する sclerostin は 3T3-L1 細胞における脂肪細胞分化を正に調節することが明らかになり，骨と脂肪組織の連携に sclerostin が関与しうることが示唆された。

各審査委員からの主な質疑項目は，以下のとおりである。

1. 本研究において想定している脂肪組織とは，骨髄内の脂肪組織を考えているのか，もしくは全身の皮下脂肪や内臓脂肪であるのか，またその根拠について
2. 古典的 Wnt シグナルの軟骨における役割と sclerostin の軟骨に対する作用に関するこれまでの報告について
3. 3T3-L1 細胞に sclerostin を添加する時期と脂肪細胞分化誘導培地の交換方法について
4. LRP4/5/6 の mRNA 発現を検討した際の PCR のサイクル数について
5. TAZ を 3T3-L1 細胞に過剰発現させた際における sclerostin の脂肪細胞分化抑制効果とその機序に関する解釈について
6. 血中 sclerostin 濃度の調節に関するこれまでの報告について
7. 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化実験における細胞固定の方法などの実験操作について
8. 骨細胞からの sclerostin の分泌機構について

申請者からはいずれの質問に対しても，本研究の経験に基づく理論，あるいは文献的知識を生かし，適切かつ明快な回答が得られ，研究の立案と遂行，結果の解析について十分な能力を有しているものと考えられた。

本論文は，近年の臨床研究で報告されたヒト血中 sclerostin 濃度と脂質代謝との相関について，*in vitro* で sclerostin が脂肪細胞分化を正に調節することを明らかにした点，および，これまで未解明の骨組織から脂肪組織への組織間連携に関与する分子として sclerostin の新たな役割を示唆した点が評価され，この業績は今後の生命科学の研究の発展や創薬に大きく寄与するものと考えられた。

また，試問の結果より学位申請者は，関連の学問領域に関する十分な知識を有していることが認められた。従って，学位申請者は博士（歯学）の学位を授与されるにふさわしいと審査員一同より認められた。