



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional Study of Pyk2-related signaling for developing novel bone anabolic drugs [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	劉, 雲青
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15013号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85928
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yunqing_Liu_review.pdf, 審査の要旨



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 劉 雲青(Liu Yunqing)

審 査 担 当 者	主査	教授	飯 村 忠 浩
	副査	教授	田 村 正 人
	副査	教授	網 塚 憲 生

学 位 論 文 題 名

Functional Study of Pyk2-related signaling for developing novel bone anabolic drugs

（骨形成促進薬の新規開発に向けたPyk2シグナルの機能解析）

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

骨粗鬆症は、骨量の低下と骨質の劣化によって骨強度が低下し、骨折リスクが増加する骨の脆弱化疾患である。骨粗鬆症患者は、易骨折性により日常生活動作(ADL)が制限され、生活の質(QOL)が著しく低下する。PTH製剤:テリパラチド(TPTD)は、骨形成促進作用により骨量を改善し骨折の予防効果を示す。また、TPTDは、顎骨骨壊死を発症するリスクの無い唯一の骨粗鬆症治療薬である。しかしながら、TPTDの生涯投与期間は2年と限られており、新規の骨形成促進剤の開発が望まれている。

これまでの研究から、Proline-rich tyrosine kinase 2 (Pyk2)は、骨形成を負に調節する機能があることが報告されてきた。しかしながら、その分子機能は不明な点が多い。また、Pyk2阻害剤は、骨形成促進薬として薬理効果を示すことが予想されるが、この仮説を検証した先行研究は無い。そこで、私たちは、骨髄間質細胞由来の細胞株であるST2の骨芽細胞への分化誘導系を用いて、Pyk2阻害剤であるPF-4618433 (PF-46)、さらにPyk2および近縁分子であるFocal adhesion kinase (FAK) の両方を阻害するPF-431396 (PF-43)の薬理効果を細胞・分子レベルで探索した。その結果、PF-43は、ST2細胞のアルカリ・フォスファターゼ（骨芽細胞の典型的マーカー）活性および石灰化を亢進した。一方、PF-43は、ST2細胞の骨芽細胞への分化を抑制した。Real-time PCR解析により、骨芽細胞のマーカー遺伝子であるALP（アルカリ・フォスファターゼ）、Runx2、Colla1（1型コラーゲン α 1鎖）、Opg（オステオポンチン）やOcn

(オステオカルシン)の変動を解析したところ、やはりPF-46はST2細胞の骨芽細胞への分化を亢進したが、PF-43は分化を抑制する傾向であった。

さらなる解析から、PF-46は古典的Wnt/ β -カテニン関連遺伝子であるWnt1、 β -catenin、Gsk-3 β や Lef の発現を亢進した。また、古典的Wnt/ β -カテニン・シグナルの活性化の特徴である、核への β -カテニン移行も確認した。これらの知見から、Pyk2の特異的な阻害は、骨芽細胞系譜への分化コミットメントに必須のシグナルである古典的Wnt/ β -カテニン・シグナルを活性化して骨芽細胞への分化を亢進していることが考えられた。

上記の結果は、Pyk2の特異的な阻害剤が、骨形成を誘導する骨形成促進剤として、新たな骨粗鬆症治療薬となり得る可能性を示唆するものであった。今後は、骨粗鬆症モデル動物へのPF-46投与による骨代謝への薬理効果を検討することが重要であると考えられた。

引き続き論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

- 1) 今回の研究で用いた二つの阻害剤PF46およびPF43の特異性の違いについて
- 2) Pyk2を含む分子シグナルとWntシグナルのクロストークの有無について
- 3) 今後の骨粗鬆症モデル動物を用いた研究展開について
- 4) c-SrcとPyk2の分子関連から考えられる破骨細胞への薬理作用について
- 5) 動物へのPyk2阻害剤投与において予想される副作用の有無について
- 6) Pyk2阻害により影響を受ける可能性のある骨以外の組織・臓器について

以上の質問に対して申請者から適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて、申請者が本研究ならびに関連分野に対する理解が十分なされており、幅広い知識を有し、本研究のさらなる発展が期待された。

以上のことから、審査委員会は全員、本研究が学位論文に十分に値し、申請者が博士（歯学）の学位を授与される資格を有するものと認めた。