

論文審査の結果の要旨および担当者	
学位申請者	服部 洋一
論文担当者	主査 廣田 誠一
	副査 垣淵 正男
	副査 都築 建三
学位論文名	Senescent RAW264.7 cells exhibit increased production of nitric oxide and release inducible nitric oxide synthase in exosomes (老化した RAW264.7 細胞は一酸化窒素の産生を増加しエクソソームとして誘導型一酸化窒素合成酵素を放出する)
論文審査の結果の要旨	
<p>近年、老化した細胞は単に細胞増殖を停止しているのではなく、Senescence-associated secretory phenotype (SASP) と呼ばれる炎症性サイトカインなどのタンパク分泌現象を生じていることが明らかとなっている。これまで骨微小環境と SASP との関連の報告は少なく、申請者は、老化に伴う破骨細胞前駆細胞の分化および SASP への影響について解析した。マクロファージ系破骨細胞前駆細胞株 RAW264.7 細胞を使用し、5、10、20 代継代培養した細胞（それぞれ P5、P10、P20）を用いて様々な実験を行った。P20 では細胞増殖能は有意に抑制され、増殖関連因子である mTOR タンパク発現は低下した。また、テロメア長は継代数の増加につれて有意に短縮を認め、P20 では老化関連酸性 β-ガラクトシダーゼ活性の上昇および老化マーカーである p-H2A. X タンパク高発現を認めた。RANKL 刺激によっても P20 の酒石酸耐性ホスファターゼ活性は有意に低く、破骨細胞分化マーカーである RANK および NFATc1 タンパクの発現もほぼ認めなかった。SASP 因子である TGF-β1・HIF-1α・誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) のタンパク発現は P20 で発現が上昇し、培養上清中の SASP 因子 (IL-6、TNF-α、NO) の濃度も P20 で有意に増加を認めた。また、エクソソームの解析では、培養上清中に放出されたエクソソームの粒子数が P20 において有意に増加し、エクソソーム内の iNOS タンパク発現が上昇していた。以上の結果より、破骨細胞前駆細胞は老化により分化が抑制され、老化した破骨細胞前駆細胞が骨微小環境内には蓄積され、さらにこの老化破骨細胞前駆細胞は SASP を介して、周囲細胞の老化および炎症を誘導し、またエクソソームとして iNOS を放出することで炎症性疾患を引き起こす可能性が考えられた。これらの結果は、骨微小環境における破骨細胞前駆細胞の老化と SASP の関係の一端を明らかにしたものであり、学位授与に値すると判断した。</p>	