

博士論文要旨

レプチン受容体陽性細胞における Erk5 の機能解明に関する研究

堀江 哲寛

Extracellular-signal regulated kinase 5 (Erk5) は、mitogen-activated protein kinase (MAPK) ファミリーに属するセリン/スレオニンキナーゼの一種であり、MAPK/Erk kinase 5 (Mek5) によって特異的に活性化される。*Erk5* 全身欠損マウスは胎生致死を示すことから、成体期 (adult) での検討が困難であった。近年では組織特異的遺伝子改変マウスを用いることで、Erk5 が血管形成や神経新生に重要であることが明らかになりつつある。しかし、成体期における Erk5 の機能に関する知見は未だ限定的である。

レプチン受容体 (leptin receptor; LepR) は、脂肪細胞から分泌されるレプチンが結合することで活性化する。これまでに、脳視床下部神経細胞においてレプチン/LepR シグナルが活性化すると摂食を強力に抑制することが知られている。また、最近では、骨髄間葉系幹細胞 (bone marrow mesenchymal stem cell; BM-MSC) の中に LepR を発現する集団が存在し、主に成体期での骨形成や造血機能の制御を担っていることも報告されている。

過去の研究から、Erk5 は神経細胞において、匂いの識別や長期記憶の形成に寄与することが知られている。しかし中枢神経系によるエネルギー代謝調節との関連については知られていない。また、我々は paired related homeobox 1 (Prx1)⁺間葉系幹細胞における Erk5 が、胎生期の骨格形成を適切に調節することを見出している。一方で、成体期の骨形成における Erk5 の機能については明らかとなっていない。そこで本研究では、LepR⁺細胞特異的に *Erk5* を欠損させた *LepR-Cre;Erk5^{fl/fl}* マウスを作製し、Erk5

が「視床下部 LepR⁺神経細胞によるエネルギー代謝調節」と「LepR⁺ BM-MSC による骨組織の恒常性維持」に対してどのような役割を果たしているかを検討した。

LepR-Cre;Erk5^{fl/fl} マウスを観察したところ、雌性マウスでのみ 10 週齢以降で肥満を呈することが明らかとなった。詳細な解析から、脂肪組織の肥大化、耐糖能の悪化、エネルギー代謝の低下などが認められた。したがって、Erk5 は視床下部神経細胞の機能を制御することで、体重やエネルギー代謝の恒常性を維持していることが示された。

続いて、*LepR-Cre;Erk5^{fl/fl}* マウスの大腿骨を観察したところ、12-16 週齢以降で著しい骨量の増加が認められた。公共データベースから入手した single-cell RNA sequencing データ及び培養細胞を用いた解析から、*Erk5* 欠損 BM-MSC では自己複製能に変化は見られなかった一方、骨芽細胞への分化が著明に亢進していた。そこで、骨芽細胞分化のマスターレギュレーターである runt-related transcription factor 2 (Runx2) や Osterix の発現を調べたところ、*Erk5* 欠損 BM-MSC で有意に上昇していた。Runx2 や Osterix は bone morphogenetic protein (BMP) -Smad1/5/8 シグナルによって発現が制御されている。我々はこれまでに、*Erk5* が smad-specific E3 ubiquitin protein ligase 2 の 249 番目のスレオニン残基 (*Smurf2^{Thr249}*) のリン酸化を介して、Smad タンパク質を分解することを示している。実際に、*Erk5* 欠損 BM-MSC では *Smurf2^{Thr249}* のリン酸化レベルの低下と Smad1 タンパク質の発現上昇が認められた。そこで *LepR-Cre;Erk5^{fl/fl}* マウスで *Smurf2^{Thr249}* のリン酸化活性化模倣体を発現させたところ、骨量増加が劇的に回復した。以上より、LepR⁺ BM-MSC において、Erk5 は *Smurf2^{Thr249}*-Smads シグナルを介して成体期における骨形成を適切に制御していることが示された。

本研究成果から、*Erk5* シグナルがエネルギー代謝異常や骨代謝異常に起因する様々な疾患に対する新規治療標的となることが期待される。

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	堀江 哲寛 (福井県)
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第 3 7 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	レプチン受容体陽性細胞における Erk5 の機能解明に関する研究
論文審査委員	(主査) 嶋澤 雅光
	(副査) 中村 光浩
	(副査) 本田 岳夫

エネルギー代謝調節や成体期の骨形成には、レプチン受容体陽性 (LepR⁺) の神経細胞及び間葉系幹細胞がそれぞれ重要である。本論文では、これらの細胞における MAP キナーゼ Erk5 の機能を検討した。LepR⁺細胞特異的 *Erk5* 欠損マウス（以下、KO マウス）を解析した結果、雌性 KO マウスでのみ耐糖能の悪化やエネルギー代謝の低下を伴う肥満を呈することが明らかとなった。また、KO マウスでは骨髄内に異常な骨形成が認められた。*Erk5* 欠損 LepR⁺間葉系幹細胞は、自己複製能に変化がなかった一方、骨芽細胞分化が顕著に亢進していた。さらに、*Erk5* 欠損 LepR⁺間葉系幹細胞では、骨形成に重要な BMP シグナルを抑制する E3 ユビキチンリガーゼ Smurf2 の 249 番目のスレオニン残基のリン酸化が低下しており、Smurf2 の活性化が抑制されていることが示唆された。そこで KO マウスにおいて Smurf2 のリン酸化活性化模倣体を発現させたところ、KO マウスで見られた骨量増加が劇的に回復した。

以上の結果は、*Erk5* がエネルギー代謝や成体期の骨形成を制御する新規の因子であることを示す。加えて、*Erk5* シグナルが肥満や骨粗鬆症などに対する新規治療標的となることが示唆される。本論文は、これらの疾患の治療における有望な分子標的を見出した点で、博士（薬科学）論文として価値のあるものとして認める。