

氏 名	やま もと ひろ みつ 山 本 博 充
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2782 号
学位授与の日付	平成 16 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Runx2 and Runx3 are essential for chondrocyte maturation and Runx2 regulates limb growth through induction of Indian hedgehog (Runx2 および Runx3 は軟骨細胞の分化に必須であり, インディアンヘッジホッグを産生することで Runx2 が四肢の成長を制御している)
論文調査委員	(主 査) 教授 開 祐 司 教授 戸口田 淳也 教授 鍋 島 陽 一

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物の骨格は特異的な時期および部位における骨構造の形成によって組み立てられ、その過程は、膜内骨化および軟骨内骨化に二分される。今日まで、骨格発生の解明のためにさまざまなノックアウトマウスやトランスジェニックマウスが作製されてきた。転写因子 Runx ファミリー (ラント関連遺伝子) の一つである Runx2/Cbfa1/PEBP2 α A を欠失させたノックアウトマウスでは骨形成が全く認められない。また、Runx2 を強発現させたトランスジェニックマウスや Runx2 のドミナントネガティブフォームを挿入したトランスジェニックマウスにより、Runx2 は軟骨細胞の成熟にも重要な働きをしていることが示された。Runx2 のドミナントネガティブマウスは Runx2 ノックアウトマウスよりも軟骨細胞の成熟抑制がより進むため、他の Runx ファミリー (Runx1 や Runx3) が軟骨の発生に関与しているのではないかと推測することができた。特に、Runx3 は胎生12.5日以降のマウス胚において成熟過程にある四肢および体幹の軟骨細胞に強く発現していることが判明したため、骨格形成における何らかの関与の可能性が強く示唆された。

転写因子 Runx (ラント関連遺伝子) ファミリーは3種類存在するが、それらはそれぞれ特異的な機能を有している。Runx1/AML1 は造血幹細胞、Runx2 は骨芽細胞および軟骨細胞の分化にそれぞれ必須であり、疾患とのかかわりでは Runx1 は急性骨髄性白血病、Runx2 は鎖骨頭蓋異骨症の原因遺伝子と考えられている。それらに対し Runx3 は、Runx1 および Runx2 にくらべ研究が遅れ、永年その機能が不明であったが、最近になって、徐々にその機能が解明されてきた。

Runx3 ノックアウトマウスでは、胃の上皮細胞のアポトーシスが抑制され、著しい上皮過形成が生じることが認められた。また、胃癌臨床検体での Runx3 の発現低下および遺伝子変異、および胃癌細胞のヌードマウスにおける腫瘍形成能が外部から Runx3 遺伝子を導入することで抑制されたこととあわせ、Runx3 が癌抑制遺伝子として胃癌の発症に重要な影響を与えていることが判明した。また別の報告によると、異なる種の Runx3 ノックアウトマウスは、いずれのマウスも地面を這うような運動障害を認め、Runx3 が背側神経根ニューロンの軸索への射出を制御していることが判明した。このように Runx3 の機能は多岐にわたると考えられるが、上述したように骨格形成にも関与していることを証明するため、Runx2 および Runx3 のダブルノックアウトマウスを作製し、その解析を行った。その結果、ダブルノックアウトマウスは四肢において、Runx2 単独のノックアウトマウスにくらべ著明に軟骨細胞の分化が阻害されていた。つまり、Runx2 および Runx3 の発現量に応じて軟骨細胞の分化が抑制され、かつ四肢の長さが減少していた。これは、Runx3 欠失による軟骨細胞の分化増殖能の低下および軟骨細胞の大きさの減少によるためと考えられた。また、ダブルノックアウトマウスは四肢において、軟骨細胞の増殖および分化を制御しているインディアンヘッジホッグの発現が全く認められなかった。Runx2 ノックアウトマウスから抽出した軟骨細胞に Runx2 を導入してやると、インディアンヘッジホッグが強く発現するようになった。さらに、Runx2 はインディアンヘッジホッグのプロモーター領域に直接結合し、強力にこれを発現させることがわかった。以上のことから、Runx2 および Runx3 は軟骨細胞の分化に必須で、特に Runx2 はインディアンヘッジホッグを介して軟骨細胞の増殖分化を制御していることが証明された。

論文審査の結果の要旨

Runx ファミリー転写因子の一つである Runx2/Cbfa1 を欠失させたノックアウトマウスは骨形成が全く認められない。また、Runx3 は胎生12.5日以降のマウス胚において四肢および体幹の軟骨細胞に強く発現していることが判明したため、骨格形成の何らかの関与の可能性が強く示唆された。

Runx3 は最近、癌抑制遺伝子として胃癌の発症に重要な影響を与えていることが判明した。また、背側神経根ニューロンの軸索への射出を制御しているということも判明した。このように Runx3 の機能は多岐にわたっているが、骨格形成にも関与している可能性があるため、Runx2 および Runx3 のダブルノックアウトマウスが作製された。その結果、Runx2 および Runx3 の発現量に応じて軟骨細胞の分化が抑制され、かつ四肢の長さが減少していた。また、ダブルノックアウトマウスは四肢において、軟骨細胞の増殖および分化を制御しているインディアンヘッジホッグの発現が全く認められなかった。Runx2 ノックアウトマウスから抽出した軟骨細胞に Runx2 を導入すると、インディアンヘッジホッグが強く発現するようになった。さらに、Runx2 はインディアンヘッジホッグのプロモーター領域に直接結合し、強力にこれを発現させることがわかった。以上のことから、Runx3 が骨格形成に関与していることが示され、かつ Runx2 がインディアンヘッジホッグを制御することで軟骨分化を誘導していることも証明された。今回の研究は、軟骨細胞の増殖と分化を誘導する因子の機能解明において重要な知見となり得たといえる。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、学位授与申請者は、平成16年5月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。