

	博士（医学）	氏名	杉本由紀
論文題目	<i>Scx</i> ⁺ / <i>Sox9</i> ⁺ progenitors contribute to the establishment of the junction between cartilage and tendon/ligament (<i>Scx</i> ⁺ / <i>Sox9</i> ⁺ 前駆細胞は軟骨と腱/靭帯の連結部の構築に寄与する)		
(論文内容の要旨)			
<p>腱は筋と骨を連結することによって筋の収縮力を骨に伝達し、靭帯は骨格間を連結して関節を安定化させている。発生過程では、軟骨、筋、腱、靭帯などの各コンポーネントは、まず、独立した原基として形成される。組織形成の進行に伴って、腱・靭帯は、骨と筋あるいは骨格間を連結するが、各コンポーネントの連結に寄与する細胞の特性については明らかではない。</p> <p><i>SRY-box containing gene 9 (Sox9)</i>は軟骨形成に不可欠な転写因子で、basic helix-loop-helix型の転写因子である <i>Scleraxis (Scx)</i>は腱の成熟に重要な役割を果たしている。<i>Scx</i>発現領域で Cre リコンビナーゼ(Cre)を発現する <i>ScxCre</i>トランスジェニック(Tg)マウスを用いた解析から、腱・靭帯付着部近傍の軟骨細胞が <i>Scx</i>⁺細胞由来であることが明らかになっている。そこで、本研究では、<i>Sox9</i>や <i>Scx</i>の発現領域で Cre を発現するマウスを用いて、<i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞集団の特性と軟骨・腱・靭帯連結部形成における役割を解析した。</p> <p>GFP と <i>Sox9</i> の二重免疫染色を行うと、胎生 10.5 日の <i>ScxGFP</i>Tg マウスでは硬節の一部及び前肢芽の近位部に <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺領域が検出された。胎生 14.5 日には <i>Sox9</i>⁺細胞は軟骨に、<i>Scx</i>⁺細胞は腱・靭帯に局限するが、踵骨のアキレス腱との連結部には <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞が残存していた。</p> <p>次に <i>Sox9Cre</i>ノックイン(KI)、<i>Rosa-CAG-LSL-tdTomato (Ai14)</i>、<i>ScxGFP</i>マウスを交配し、<i>Sox9Cre⁺;Ai14;ScxGFP</i>マウスを用いて <i>Scx</i>⁺領域における <i>Sox9</i>⁺細胞の系譜を解析した。中軸では肋間筋腱、椎骨近傍の脊柱起立筋の腱、椎間板の外側線維輪が、四肢では靭帯、筋を骨格に固着させている短い腱及び長い腱の骨格への付着部が <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞由来であった。一方、脊柱から離れた広背筋や胸腰筋膜の一部、横隔膜の胸骨部付近、長い腱の付着部から離れた部分は <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞由来であった。すなわち、軟骨に近づくほど <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞由来の腱細胞が多く存在し、付着部から離れた腱細胞は <i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞由来であった。</p> <p>更に、<i>Scx</i>⁺/<i>Sox9</i>⁺細胞における <i>Sox9</i> の役割を解析するために、<i>Scx</i>⁺領域で <i>Sox9</i>が欠失する <i>ScxCre-L;Sox9^{flox/flox}</i>マウスを作成した。<i>ScxCre-L;Sox9^{flox/flox}</i>マウスでは、腱の付着部や周囲を腱に囲まれている肋骨や膝蓋骨が欠損していた。腱と軟骨のマーカーである <i>Tenomodulin (Tnmd)</i>と <i>Chondromodulin-1 (Chm1)</i>の二重免疫染色を行うと、腱・靭帯の軟骨への付着部の低形成あるいは欠損が認められることが明らかになった。コントロールの <i>Sox9^{flox/+}</i>マウスでは、軟骨に隣接する腱付着部や椎間板の外側線維輪に <i>Sox9</i>⁺細胞が存在したが、<i>ScxCre-L;Sox9^{flox/flox}</i>マウスでは、これらの細胞が欠損し、軟骨様の基質を有する内側線維輪の低形成が認められた。以上の結果から、<i>Sox9</i>⁺/<i>Scx</i>⁺細胞における <i>Sox9</i> の発現は腱・靭帯付着部や椎間板の形成に必要であることが明らかになった。</p>			

本研究により、*Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞群は、腱細胞、靭帯細胞、軟骨細胞となる多能性を有し、軟骨・腱・靭帯の連結部の構築に寄与することが判明した。

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、腱・靭帯細胞の分化に必要な転写因子である *Scleraxis (Scx)*と軟骨形成に不可欠な転写因子である *SRY-box containing gene 9 (Sox9)*を共発現する間葉系前駆細胞 (*Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞) 集団の特性とその軟骨・腱・靭帯連結部形成における役割が解析された。

即ち、胎生 10.5 日に硬節の一部及び前肢芽近位部に *Scx*⁺/*Sox9*⁺領域が認められた。胎生 14.5 日には、踵骨のアキレス腱との連結部に *Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞が残存したが、*Sox9*⁺細胞は軟骨に、*Scx*⁺細胞は腱・靭帯に局限した。また、*Scx*⁺領域における *Sox9*⁺細胞の系譜解析では、軟骨に近づくほど *Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞由来の腱細胞が多く存在し、軟骨への付着部から離れた腱細胞は *Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞由来であった。

更に、*Scx*⁺領域で *Sox9*を欠失させると、軟骨・腱・靭帯の連結部や椎間板が欠損あるいは低形成となり、*Scx*⁺細胞における *Sox9* の発現は腱・靭帯付着部や椎間板の形成に必要であることが判明した。したがって、*Scx*⁺/*Sox9*⁺細胞群は、腱細胞、靭帯細胞、軟骨細胞への分化能を有し、軟骨・腱・靭帯の連結部の構築に寄与することが判明した。

以上の研究は腱・靭帯による運動器コンポーネントの連結を制御する分子機構の解明に貢献し、運動器機能の形成・維持や再生機構の理解に寄与するところが多い。

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、本学位授与申請者は、平成 25 年 12 月 5 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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降