

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	水 橋 孝 治
論文題目	OBIF, an osteoblast induction factor, plays an essential role in bone formation in association with osteoblastogenesis（骨芽細胞誘導因子 OBIF は、骨芽細胞形成に関連して骨形成に重要な役割を果たす）		

（論文内容の要旨）

骨格は膜性骨化と内軟骨性骨化という二種類の方法で形成される。膜性骨化は軟骨形成を介さずに直接に骨が形成される形式であり、頭蓋冠、上腕骨、下顎骨、鎖骨の一部等で形成される。一方、四肢骨、頭蓋底部の骨、椎骨、肋骨、骨髄などは最初、軟骨を原型として形成され、それらが内軟骨性骨化の過程を経て骨組織に置換される。いずれの骨形成においても中心的な役割を果たす骨芽細胞は、軟骨細胞、筋芽細胞、脂肪細胞と共通の間葉系細胞から分化していくと考えられている。骨芽細胞の分化には Runx2、Osterix が決定的な働きを担っていることを示す多くの報告がなされてきた。また、間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化過程には BMP シグナルおよび Wnt シグナルが重要な役割を果たしている。しかし、上記以外の骨芽細胞における新規細胞外制御因子の報告は少ない。

OBIF は、I 型膜貫通蛋白質をコードする骨芽細胞特異的に発現する遺伝子であり、胎生 9.5 日齢から肢芽に発現し始め、内軟骨性骨化を形成する発生後期に最も多く骨芽細胞に発現が見られる。また、マウス前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 における OBIF の過剰実験では、骨芽細胞の分化を促す一方、OBIF のノックアウト実験では、骨芽細胞の分化抑制が認められた。よって OBIF は、骨芽細胞形成に重要な役割を持つことが示唆された。

今回私は、OBIF の機能を生体レベルで検討するために OBIF 欠損マウスの作製と解析を行った。OBIF 欠損マウスの大腿骨遠位部でのマイクロ CT 法による解析を行い、野生型マウスと比較して 2 週齢 OBIF 欠損マウスでは皮質骨厚が、8 週齢マウスでは皮質骨厚に加えて骨量、骨梁連結数および骨梁幅は有意に減少し、一方骨梁間隔は有意に増加していることを見出した。また、大腿骨遠位部の骨形態計測法による解析から、OBIF 欠損マウスは野生型マウスと比較して骨形成速度が有意に低下した。さらに、OBIF 欠損マウスでは大腿骨遠位部の蛍光免疫染色法による解析から Collagen 1 発現の低下、さらに頭蓋冠での *in situ* ハイブリダイゼーション法による解析から Osteopontin の発現の低下が認められた。これらの結果は、OBIF が生体内においても骨芽細胞の分化・成熟に関与する分子であることを示すものである。

（論文審査の結果の要旨） 以前、学位申請者の所属研究室で骨芽細胞の発生・分化に関わる新規遺伝子探索の過程で、マウス発生過程の骨芽細胞に強い発現を示す新規膜蛋白質 OBIF を同定した。さらにマウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1 を用いた研究より、OBIF は骨芽細胞の分化・成熟に関与する分子である可能性が示唆された。 今回学位申請者は、OBIF の機能を生体レベルで検討するために OBIF 欠損マウスの作製と解析を行った。OBIF 欠損マウスの大腿骨遠位部でのマイクロ CT 法による解析を行い、野生型マウスと比較して 2 週齢 OBIF 欠損マウスでは皮質骨厚が、8 週齢マウスでは皮質骨厚に加えて骨量、骨梁連結数および骨梁幅は有意に減少し、一方骨梁間隔は有意に増加していることを見出した。また、大腿骨遠位部の骨形態計測法による解析から、OBIF 欠損マウスは野生型マウスと比較して骨形成速度が有意に低下した。さらに、OBIF 欠損マウスでは大腿骨遠位部の蛍光免疫染色法による解析から Collagen 1 発現の低下、さらに頭蓋冠での <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション法による解析から Osteopontin の発現の低下が認められた。これらの結果は、OBIF が生体内においても骨芽細胞の分化・成熟に関与する分子であることを示すものである。 以上の研究はOBIFのマウス生体における機能の解明に貢献し骨研究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 24 年 4 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			