

氏 名	關 賢 二
学位の種類	博士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2663 号
学位授与の日付	平成 16 年 1 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	医学研究科病理系専攻
学位論文題目	Mouse Snail family transcription repressors regulate chondrocyte extracellular matrix, type II collagen and aggrecan (マウス・スネイル転写因子ファミリーは、軟骨細胞外基質の 2 型コラーゲンとアグリカンを制御する)
論文調査委員	(主 査) 教授 開 祐 司 教授 中 村 孝 志 教授 鍋 島 陽 一

論 文 内 容 の 要 旨

スネイル・ファミリー遺伝子は転写抑制因子をコードし、異なる種間で進化上保存されている遺伝子である。これらの遺伝子は発達段階によって異なる器官で発現し、細胞分化、細胞運動、細胞周期制、アポトーシスといった幅広い生命現象に関わるため、個体の発生と発達に重要な遺伝子と考えられている。しかし、これらの転写因子が制御している標的遺伝子はあまり知られていない。

この論文で、申請者はマウス・スネイル・ファミリー遺伝子である Snail と Slug が軟骨細胞の 2 型コラーゲンとアグリカン遺伝子の発現を制御することを報告した。まず、マウス胎児四肢の切片の *In situ* ハイブリダイゼーションにより Snail, Slug 遺伝子の発現と 2 型コラーゲン遺伝子の発現に逆の相関があることが解った。Snail と Slug 遺伝子は軟骨細胞の中でも肥大軟骨細胞に強く発現し、一方、2 型コラーゲンは増殖軟骨細胞と前肥大軟骨細胞に強く発現していたが、肥大軟骨細胞では逆に発現が消失していた。この発現の逆相関は、軟骨細胞分化株 ATDC5 でも認められた。ATDC5 では分化に伴い 2 型コラーゲンが発現するが、逆にこの時 Snail と Slug 遺伝子の発現量は減少していた。また、外来性の Snail または Slug を ATDC5 に強制発現すると、分化時に 2 型コラーゲンとアグリカンの遺伝子の発現量が著しく減少することが解ったので、次に、2 型コラーゲン遺伝子が Snail と Slug の標的遺伝子である可能性を検討した。それには、ATDC5 に 2 型コラーゲン遺伝子の転写プロモーター領域を組み込んだレポーター遺伝子を導入して転写解析を行った。この解析から、Snail と Slug がこの領域にある DNA 結合配列の E-box を介して転写を抑制することが解った。また、ゲルシフト解析から Snail がこの E-box に結合することがわかった。

以上の結果から、スネイル・ファミリー遺伝子は軟骨細胞が分泌する機能的に重要な細胞外基質である 2 型コラーゲンとアグリカンの発現を制御することで軟骨細胞の分化に重要な役割を果たしていると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

軟骨細胞の分化を制御する転写因子はあまりわかっていない。

本研究で、申請者はマウス・スネイル・ファミリー遺伝子である Snail と Slug が軟骨細胞の 2 型コラーゲンとアグリカン遺伝子の発現を制御することを報告した。マウス胎児四肢の切片の *In situ* ハイブリダイゼーションでは Snail, Slug 遺伝子の発現と、2 型コラーゲン遺伝子の発現に逆の相関があることが観察された。Snail と Slug 遺伝子は軟骨細胞の中でも肥大軟骨細胞に強く発現し、一方、2 型コラーゲンは増殖軟骨細胞と前肥大軟骨細胞に強く発現していたが、肥大軟骨細胞では逆に発現が消失していた。この発現の逆相関は、軟骨細胞分化株 ATDC5 でも認められた。ATDC5 では分化に伴い 2 型コラーゲンが発現するが、逆にこの時 Snail と Slug 遺伝子の発現量は減少していた。また、外来性の Snail または Slug を ATDC5 に強制発現すると、分化時に 2 型コラーゲンとアグリカンの遺伝子の発現量が著しく減少することが解った。ATDC5 に 2 型コラーゲン遺伝子の転写プロモーター領域を組み込んだレポーター遺伝子を導入して転写解析を行った。こ

の解析から、SnailとSlugがこの領域にあるDNA結合配列のE-boxを介して転写を抑制することが解った。また、ゲルシフト解析からSnailがこのE-boxに結合することがわかった。以上の結果から、スネイル・ファミリー遺伝子は軟骨細胞の細胞外基質である2型コラーゲンとアグリカンの発現を制御することで軟骨細胞の分化に関与していると考えられた。

以上の研究は軟骨細胞の分化制御機序の解明に貢献し、医科学の発展に寄与するところが大い。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15年11月25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。