



Title	Maturational Disturbance of Chondrocytes in Cbfa1-Deficient Mice
Author(s)	稲田, 正彦
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/42894">https://hdl.handle.net/11094/42894</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	稲田正彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第15603号
学位授与年月日	平成12年5月8日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Maturational Disturbance of Chondrocytes in Cbfa1-Deficient Mice (Cbfa1遺伝子欠損マウスにおける軟骨細胞の分化障害)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤 佑次  (副査) 教授 越智 隆弘 教授 北村 幸彦

#### 論文内容の要旨

##### (目的)

Cbfa1はショウジョウバエの体節形成遺伝子 runt にホモロジーのある runt-domain gene family に属する転写因子である。Cbfa1遺伝子欠損マウスは骨芽細胞の分化障害により全く骨化を示さず、骨格は軟骨細胞のみで構成されている。今回 Cbfa1遺伝子欠損マウスの軟骨細胞の分化について検討した。

##### (方法と結果)

正常マウスの Cbfa1 の発現を whole mount in situ hybridization 法、in situ hybridization 法で調べた。Cbfa1 の発現は胎生期11.5日に初めて胚芽に認められる。

胎生期13.5日には肥大軟骨細胞に Cbfa1 の発現を認め、軟骨細胞では胎生期14.5~16.5日にその発現は最も顕著になり、軟骨細胞の分化とともに Cbfa1 の発現量も増加する傾向が認められた。

次に組織学的に胎生期18.5日の Cbfa1 の遺伝子欠損マウスを調べた。遠位骨では骨髄はなく中央部に幅広い肥大軟骨細胞層を認めた。また von Kossa 法では肥大軟骨細胞周囲に石灰化を薄く認めるのみで骨化をしめさなかった。近位骨を含む大部分の骨では軟骨細胞の障害はより強く、肥大軟骨細胞もほとんどなく von Kossa 法でも骨化は全く認めなかった。Cbfa1遺伝子欠損マウスの大部分の骨格は近位骨と同程度の分化段階の軟骨細胞で構成されていた。

Cbfa1遺伝子欠損マウスでの軟骨細胞の分化を調べる目的で各種 collagen の発現を検討した。type I collagen は骨膜や皮膚などの線維芽細胞にのみ発現を認めた。type II collagen は遠位骨では静止軟骨細胞、増殖軟骨細胞に発現があり肥大軟骨細胞ではその発現は軽度減弱していた。近位骨では静止、増殖軟骨細胞領域に全骨格にまばらに発現していた。type XI collagen も type II collagen とほぼ同様の発現傾向であった。

type X collagen は遠位骨では肥大軟骨細胞に発現を認めたが、近位骨ではその発現は全くなかった。Cbfa1遺伝子欠損マウスの体幹骨よりの RNA を使用した Northern blot 法による検討でも同様の結果であった。

collagen 以外に BMP6、Chondromodulin-1、aggrecan の発現を Cbfa1遺伝子欠損マウスで検討した。BMP6は遠位骨では肥大軟骨細胞に弱く発現していたが近位骨では発現はなかった。Chondromodulin-1、aggrecan は遠位骨の全ての軟骨細胞に発現を認めたが、近位骨ではまばらな発現のみであった。

以上の結果より Cbfa1遺伝子欠損マウスは遠位骨では肥大軟骨細胞まで分化していたが、近位骨を含む大部分の骨

格の軟骨細胞は強く障害されていることが示された。

正常マウスでは骨芽細胞と後期肥大軟骨細胞に発現する Osteopontin、BSP、Collagenase3の発現を胎生期16.5日の Cbfa1遺伝子欠損マウスで調べたが、遠位骨でも近位骨でもほとんど発現を認めなかった。いずれの遺伝子もプロモーター領域に Cbfa1結合部位があり Cbfa1に直接制御されていると考えられる。またこれらの遺伝子が発現していないことが、Cbfa1遺伝子欠損マウスの軟骨細胞の最終的な分化が阻害されている原因の1つではないかと考えられる。

次に軟骨細胞の分化を制御していると報告された Ihh、PTHrP、PTH/PTHrPreceptor の発現を in situ hybridization 法、Northern blot 法、RT-PCR 法で検討した。Ihh、PTH/PTHrPreceptor は Cbfa1遺伝子欠損マウスの遠位骨では肥大軟骨細胞に発現していたが、近位骨ではほとんど発現は認められなかった。PTHrP は発現量が少なかったため RT-PCR 法で比較したが Cbfa1遺伝子欠損マウスと正常マウスの発現量に差を認めることはできなかった。また Ihh、PTH/PTHrPreceptor の発現量の差は軟骨細胞の分化障害の結果を反映していると考えられた。

(総括)

Cbfa1遺伝子欠損マウスは骨芽細胞の分化ばかりではなく軟骨細胞の分化も強く障害されている。また正常なマウスでは胎生中期より Cbfa1の発現が軟骨細胞に認められ、分化とともにその発現が強くなっていることより Cbfa1は軟骨細胞の分化にも重要な因子であると考えられる。

#### 論文審査の結果の要旨

Cbfa1はショウジョウバエの体節形成遺伝子 runt にホモロジーをもつ転写因子である。Cbfa1遺伝子欠損マウスは骨芽細胞の分化障害により骨化を示さず、全骨格は軟骨細胞より構成されている。本研究は Cbfa1遺伝子欠損マウスの軟骨細胞の分化について組織学的に検討し、さらに各種コラーゲンなどの遺伝子の messenger RNA の発現を in situ hybridization 法、Northern blot 法で調べ、Cbfa1遺伝子欠損マウスでは軟骨細胞にも分化障害があることを示した。また正常マウスにおける Cbfa1の messenger RNA の発現を whole mount in situ hybridization 法、in situ hybridization 法で検討し、Cbfa1は胎生中期より発現を認め軟骨細胞の分化とともに Cbfa1の発現が強くなっていることを示した。以上の結果より Cbfa1は骨芽細胞の分化ばかりでなく軟骨細胞の分化にも重要な因子であることが明らかにされた。これらは新しい知見であり学位に値すると思われる。