The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Runx2 deficiency in chondrocytes causes adipogenic changes in vitro
Author(s)	古市, 達哉
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46035
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏　　名　古市達哉（ふるいち たつや）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　19094　号

学位授与年月日　平成17年1月31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　*Runx2* deficiency in chondrocytes causes adipogenic changes in vitro
（軟骨細胞におけるRunx2欠損は、in vitroで脂肪細胞への形質変化を引き起こす）

論文審査委員　（主査）
教　授　川瀬　一郎

（副査）
教　授　大薗　恵一　　教　授　吉川　秀樹

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

Runx2は間葉系幹細胞が骨芽細胞系列細胞へ分化決定するために必須の転写因子である。一方でRunx2は軟骨細胞においても発現しており、軟骨細胞の分化成熟を促進する作用を有することが示されている。本研究の目的はRunx2欠損マウスから調製した初代培養軟骨細胞の特性を調べることによって軟骨細胞におけるRunx2の新たな役割を検討することである。

〔　方法ならびに成績　〕

胎生18.5日目のRunx2ノックアウトマウスおよび野生型マウスの肋軟骨から初代培養軟骨細胞を調製し、細胞特性を検討した。Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞はコンフルエントになるまでは活発に増殖し、野生型マウス由来軟骨細胞と同様な形態を示した。調製直後のRunx2$^{-/-}$ 軟骨細胞のほとんどは、type II collagen抗体染色に対して陽性であり、軟骨細胞の形質を保持していることが示された。培養開始6日後ではRunx2$^{-/-}$ 軟骨細胞の中に巨大化し多数の空泡を含む細胞が出現し、9日後には50%以上の細胞が空泡を有し、脂肪細胞に類似した形態を示した。この空泡はオイルレッドで赤く染色されることから脂肪滴であることが確認された。一方、野生型マウス軟骨細胞では9日目においてもこのような脂肪細胞への形質変化は全く観察されず、軟骨細胞の形態を維持していた。

Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞では脂肪細胞分化のマーカー遺伝子であるPPARγ、aP2、Glut4の発現が経日的に上昇していき、軟骨細胞マーカーであるtype II collagenの発現は減少していった。更に脂肪細胞分化に対して抑制的に働くPref-1の発現は急激に減少していった。Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞における脂肪細胞への形質変化がRunx2欠損に依存していることを証明するために、アデノウイルスベクターを用いてRunx2$^{-/-}$ 軟骨細胞にRunx2を強制発現させた。Runx2発現Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞では、コントロールのEGFP発現細胞に比べ、脂肪細胞への形質変化が顕著に抑制された。従って脂肪細胞への形質変化は確かにRunx2欠損に依存していることが証明された。

Runx2ノックアウトマウス生体内における軟骨細胞は、成熟軟骨細胞への分化は阻害されているものの、軟骨細胞としての形質は保持しており、脂肪細胞へ形質変化し脂肪組織が増加していく現象は観察されない。従って生体内にはRunx2$^{-/-}$ 軟骨細胞の脂肪細胞への形質変化に対して、抑制的に働く因子が存在していると思われる。この因子を同定するためにRunx2$^{-/-}$ 軟骨細胞に各種液性因子を添加し、脂肪細胞への形質変化に対する影響を調べた。その結

果、TGF-β、retinoic acid、IL-1β、bFGF、PDGF、IL-11、PTH は脂肪細胞への形質変化を抑制した。また Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞に Runx2 を強制発現することによって IL-11 発現は有意に上昇し、Runx2 を強制発現し更に TGF-β を加えることによって IL-11 発現は協調的に上昇した。

〔　総　　括　〕

これまでに Runx2 は軟骨細胞の成熟を促進する因子であることが明らかとなっていたか、今回の検討で Runx2 は軟骨細胞の形質を維持する作用、または脂肪細胞への分化を抑制する作用を有することが示され、軟骨細胞において多様性を有することが示された。また Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞の脂肪細胞への形質変化を抑制する因子として TGF-β、retinoic acid、IL-1β、bFGF、PDGF、IL-11、PTH が同定された。Runx2$^{-/-}$ 軟骨細胞に Runx2 を強制発現することによって IL-11 が有意に上昇したことから、Runx2 による脂肪細胞分化抑制は一部 IL-11 の発現誘導を介して行われていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、Runx2 遺伝子欠損マウスの初代培養軟骨細胞の特性を調べることによって、軟骨細胞における Runx2 の機能について検討したものである。特殊染色、免疫染色およびマーカー遺伝子発現の検討によって、Runx2 欠損軟骨細胞は、脂肪細胞へ容易に形質変化することが示された。また Runx2 欠損軟骨細胞の脂肪細胞への形質変化を抑制する因子として、TGF-β、retinoic acid、IL-1β、bFGF、PDGF、IL-11、PTH を同定した。更に軟骨細胞において Runx2 が IL-11 を誘導することを示した。これらの結果より Runx2 は軟骨細胞の形質を維持する作用または脂肪細胞への分化を抑制する作用を有することが明らかとなり、この作用は一部、IL-11 の誘導を介して行われていることが示唆された。Runx2 が軟骨細胞の形質維持に関与するという知見は重要であり、本実験で行われた Runx2 強制発現の実験系は再生医学の分野において応用が期待できる。以上より本研究は学位に値すると認められた。