

Title	内軟骨性骨形成過程における新規転写因子Zfhx4の役割の解明
Author(s)	中村, 恵理子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/52369">https://doi.org/10.18910/52369</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏名 ( 中村 恵理子 )

論文題名

内軟骨性骨形成過程における新規転写因子**Zfhx4**の役割の解明

## 論文内容の要旨

内軟骨性骨形成は、ヒトの多くの骨の形成、骨折の治癒過程や変形性関節症で見られる骨棘の形成に関与している。頭蓋顎顔面領域においては、内軟骨性骨形成の障害により生じる疾患として**Kniest** 異形成症、**Stickler**症候群、先天性脊椎骨端異形成症等が知られており、口蓋裂を来たす場合も報告されている。したがって内軟骨性骨形成の分子メカニズムを理解することは、頭蓋顎顔面骨の先天性疾患、骨折の治癒過程、変形性関節症に対する診断あるいは治療を考える上で非常に意義深いことと考える。これまでに、**Sox9**、**Runx2**ならびに**Osterix**を中心とした転写因子や転写共役因子が内軟骨性骨形成の連続的かつ多段階に渡る細胞分化プログラムを統括していることが明らかにされてきたが、その全貌は未だ明らかではない。そこで本研究では、内軟骨性骨形成の制御機構の理解をさらに深めるために、内軟骨性骨形成に関わる新規転写因子の同定とその機能解析を目指した。

内軟骨性骨形成の制御に関与する新規転写因子を同定するために、高い軟骨分化能を有するマウス胚芽細胞を用いて**Microarray**解析を行った結果、軟骨細胞に高発現する転写因子として**Zfhx4**を同定した。**Zfhx4**は、生後0日齢マウスの様々な組織のうち、長管骨、頭蓋骨、肋骨および上顎骨において**Zfhx4 mRNA**の強い発現を認め、生後2日齢マウス脛骨成長板の肥大化層に免疫染色にて強い発現を呈したことから、**Zfhx4**は骨格形成過程に関与している可能性が推察された。そこで**Zfhx4** 遺伝子欠損 (**KO**) マウスを作製したところ、生後0日齢の**Zfhx4 KO** マウス骨格標本では、頭蓋の前後径の短縮、肋骨の形成不全、胸腔の矮小化、肩甲骨、上腕骨の短縮、大腿骨が観察された。また胎生15.5日齢の**Zfhx4 KO**マウスにおいて、大腿骨の短縮と軟骨細胞の肥大化の遅延を認めた。**Zfhx4**の内軟骨骨形成過程への関与が示唆されたため、胎生15.5日齢の**Zfhx4 KO**マウス大腿骨において免疫染色法および **in situ** ハイブリダイゼーション解析により軟骨細胞分化マーカーの発現を解析したところ、内軟骨性骨形成の前期マーカーである**2型コラーゲン**の発現は、同腹の**WT**マウスと同程度であった。一方、内軟骨性骨形成後期マーカーである**10型コラーゲン**および**MMP13**の発現は、**Zfhx4 KO**マウスでは著しく低下していた。**Zfhx4**が内軟骨性骨形成過程の後期段階の制御に深く関与していることが示されたので、さらに内軟骨性骨形成の石灰化過程に対する検討を**Von Kossa**染色にて行った結果、胎生16.5日齢**Zfhx4 KO**マウス大腿骨では内軟骨性骨形成の石灰化過程が著しく障害されていることが明らかとなった。そこで、内軟骨性骨形成の肥大化ならびに石灰化過程の制御に必須の転写因子**Runx2**ならびに**Osterix**との関連を検討したところ、**Zfhx4**は**Runx2**と異なる細胞内局在を示したが、**Zfhx4**と**Osterix**の細胞内局在は良く一致しており、**Zfhx4**は**Osterix**と物理的に結合していることが見出された。

以上の結果より、**Zfhx4**は、**Osterix**と協調することにより内軟骨性骨形成の後期段階の制御に深く関与していることが示唆された。またそのメカニズムとして、**Zfhx4**は多くの**homeo box**ドメインや**Zinc Finger**ドメインを有することから、**Zfhx4**が**Osterix**をはじめとする様々な転写因子や転写共役因子と結合する転写プラットフォームとして機能している可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 中 村 恵 理 子 )	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 由良 義明
	副 査 教授 山城 隆
	副 査 准教授 河合 伸治
	副 査 講師 佐藤 淳
<b>論文審査の結果の要旨</b>	
<p>本研究は、ヒトの顎顔面領域を含む多くの骨格の形成ならびに発育、骨折の治癒過程、および変形性関節症の骨棘の形成に深く関与する内軟骨性骨形成の制御機構の解明を目指して、内軟骨性骨形成に関わる新規転写因子の同定とその機能解析を詳細に検討したものである。その結果、軟骨細胞において高い発現を示す新規転写因子 Zfhx4 を同定し、Zfhx4 が Osterix と協調することにより内軟骨性骨形成の後期段階で重要な役割を果たしていることを見出した。</p> <p>以上の結果は、内軟骨性骨形成の分子メカニズムについて新たな知見を示すものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。</p>	