



Title	Cellular ATP synthesis mediated by type III sodium-dependent phosphate transporter Pit-1 is critical to chondrogenesis
Author(s)	杉田, 淳
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58182
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/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

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

低リン血症を認めるX染色体性低リン血症 (XLH) では長管骨の成長障害を認めることからリン代謝と内軟骨性骨化の間に何らかの関与があると推察される。我々は生体内でリン代謝の制御に重要な役割を果たしているナトリウム依存性リン輸送担体 (NPT) に注目し、NPTおよびその下流が内軟骨性骨化にどのように関与しているかをXLHのホモログである*Hyp*マウスを用いて検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

Tunel染色を用いて野生型マウスと*Hyp*マウスの成長軟骨層におけるアポトーシスを比較すると肥大軟骨層でアポトーシスの低下を認めた。培養軟骨細胞においては*Hyp*マウス軟骨細胞ではアポトーシスと石灰化 (アリザリンレッド染色) の低下を認めた。また、*Hyp*マウス軟骨細胞におけるIII型NPT (Pit-1) mRNAの発現をReal-time PCR法を用いて検討すると野生型マウス軟骨細胞より発現が低下していた。軟骨細胞内へのリンの取り込み量を³²Pを用いて定量すると*Hyp*マウス軟骨細胞内へのリン取り込み量は低下していた。さらに細胞内ATP量をATP Assay kit (Calbiochem)を用いて定量すると*Hyp*軟骨細胞内では低下していた。Caspase-9とCaspase-3の活性をCaspase-Glo 3/7 Assay kit (Promega) および Caspase-Glo 9 Assay kit (Promega)を用いて定量すると*Hyp*軟骨細胞内のCaspase-9とCaspase-3の活性は低下していた。また、NPTの競合的阻害剤であるphosphonoformic acidとATP合成阻害剤である3-bromopyruvateは軟骨細胞内でのATP量を低下させ、軟骨細胞のアポトーシス、石灰化を抑制した。また、Pit-1 mRNAを*Hyp*マウス軟骨細胞に過剰発現させるとリンの取り込み、ATP合成、アポトーシス、石灰化が改善し、siRNAを用いて野生型軟骨細胞のPit-1の発現を抑制するとリンの取り込み、ATP合成、アポトーシス、石灰化は低下した。

〔 総 括 〕

Pit-1を介したリンの取り込みはATPの合成を制御することにより軟骨細胞のアポトーシスおよび石灰化を調節していると推察された。

論文審査の結果の要旨

軟骨細胞膜上に存在する3型ナトリウム依存性リン輸送担体 (Pit-1) を介して細胞内へ取り込まれたリンは細胞内でATP産生に利用され、カスパーゼシグナル経路を介して軟骨細胞のアポトーシスや石灰化を制御していることが明らかとなった。リンが軟骨細胞分化のアポトーシスや石灰化に関与しているとの報告は過去に散見されるが、その機序については今まで明らかにされたことはなく、今回の研究でその一端が初めて明らかとなった。軟骨細胞のアポトーシスにとってATPが重要な因子になっていることを明らかにしたことは非常に興味深い。また、X染色体性優性ビタミンD抵抗性低リン血症性くる病 (XLH) の動物モデルである*Hyp*マウスを用いて実験を行い、軟骨細胞においてPit-1の発現が低下していることを確認した。これまで軟骨細胞の分化異常は細胞外の要因である低リン血症が原因と考えられてきたが、今回の研究で*Hyp*マウスの軟骨細胞自体に異常があり、分化異常をきたしていることを初めて示した。今回の結果がXLHの骨格異常、成長障害の機序解明につながる可能性があり、非常に価値のある研究である。以上のことからこの研究は学位の授与に値するものと認める。

【118】

氏 名	すぎ 杉 田 かつし 淳
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 4 4 4 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学 位 論 文 名	Cellular ATP synthesis mediated by type III sodium-dependent phosphate transporter <i>Pit-1</i> is critical to chondrogenesis (III型Na依存性リン輸送担体 <i>Pit-1</i> を介したATP合成は軟骨細胞分化において重要な役割を果たしている)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 川 秀 樹 (副査) 教 授 大 藪 恵 一 教 授 岩 井 一 宏