



Title	Neogenin, a Receptor for Bone Morphogenetic Proteins
Author(s)	萩原, 芽子
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59713">https://hdl.handle.net/11094/59713</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">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

氏 名	はぎ 原 芽 子
博士の専攻分野の名称	博 士（医学）
学 位 記 番 号	第 2 5 6 5 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体生理医学専攻
学 位 論 文 名	Neogenin, a Receptor for Bone Morphogenetic Proteins (Neogenin は BMP（骨形成タンパク質）の受容体である。)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 山下 俊英 (副査) 教 授 岡村 康司 教 授 菊地 章

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的(Purpose)〕

Bone morphogenetic proteins(BMP)は、transforming growth family super-familyに属し、分化、成長、細胞死に関与する様々なプロセスを制御する多機能性サイトカインである。BMPは、BMP受容体(BMPR)を介して、smadを活性化し、転写を制御するという基本型のシグナル伝達が知られている。BMPRには、セリンスレオニンキナーゼ領域を持つ3種類のタイプ1 受容体と3種類のタイプ2 受容体が存在し、異なるヘテロ4量体の組み合わせで、組織特異的な機能の制御を可能としている。したがって、BMPシグナルの制御因子及び、その制御機構は、重要な役割を担うことが示唆される。

そこで本研究では、BMPの新規受容体として、neogeninを同定し、BMP-neogeninシグナルによる骨芽細胞分化制御機構の解明を試みた。

〔 方法ならびに成績(Methods/Results)〕

BMPの受容体として、neogeninを同定するために、BMPにより骨芽細胞分化が誘導されることが報告されているマウス筋衛星細胞C2C12細胞、またはマウス大脳皮質組織で、免疫沈降法を行ったところ、両細胞に内在的に発現するneogeninに、BMPが結合していることが見出された。さらに、BMPとneogeninが、直接結合していることも、ELISA法及び、免疫沈降法で明らかにした。

次に、C2C12細胞に、neogenin siRNAを遺伝子導入して、neogeninの発現抑制を行った。骨芽細胞分化マーカーであるAlkaline phosphatase(ALP) 発現を、ALP染色法で観察した結果、neogenin siRNA導入細胞において、BMPによるALP発現量増加は、control siRNA導入細胞と比較して増大した。一方、neogeninを強制発現させると、BMPによるALP発現量増加は、control細胞と比較して減少した。ALPのmRNA量を、real-time RT-PCR法で測定しても、同様の結果が得られた。このことから、BMPに誘導される骨芽細胞分化が、neogeninにより抑制されることが示唆された。

最後に、ALP発現を抑制するBMP-neogeninシグナルの解析を行うため、smadのリン酸化及び、その下流の転写因子Id-1の発現量を指標に、western-blotting法にて解析を行った。C2C12細胞に、neogenin siRNAを導入して発現量を抑制すると、BMPによるsmadのリン酸化レベル及び、Id-1の発現量増加は、control siRNA導入細胞と比較して増大した。一方、neogeninを強制発現させると、BMPによるsmadのリン酸化レベル及び、Id-1発現量増加は、control細胞と比較して減少した。このことから、BMPは、neogeninを介して、smadのリン酸化を抑制していることが示唆された。そこで、smadのリン酸化レベル及び、ALPの発現量の抑制を行うBMP-neogeninシグナルを解析した。これまでに、Rhoキナーゼの阻害剤であるY27632により、BMPによる骨芽細胞分化及び、骨形成が促進されることが報告されているため、GTP-Rho pull down assayを行い、BMPはneogeninを介してRhoを活性化することを明らかにした。また、Y27632存在下で、BMPによるALPの発現量増大は見られるが、smadのリン酸化レベルは増大されないのに対して、Rhoのドミナントネガティブ変異体を細胞に導入すると、BMPによるsmadのリン酸化レベル増大及びALPの発現量増大が見られた。

〔 総 括(Conclusion)〕

BMPの新規受容体として、neogeninを同定した。BMPはneogeninを介してRhoの活性化を行い、骨芽細胞分化を抑制することが示された。Rhoが活性化すると、smadのリン酸化が抑制され、骨芽細胞分化が抑制されることが明らかとなった。本研究により、BMPのneogeninを介した骨芽細胞分化制御機構が明らかとなった。中枢神経系で多く発現している受容体タンパク質neogeninは、骨芽細胞分化、また骨形成を調節するのに重要な標的分子である可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、中枢神経系で多く発現している受容体タンパク質neogeninをBMPの新規受容体として同定し、neogeninが、

BMPの誘導する骨芽細胞分化にも関与することを明らかにした。具体的には、BMPがneogeninに結合すると、small G タンパク質であるRhoを活性化し、その活性化したRhoが、BMPシグナルのひとつであるsmadのリン酸化を抑制することで、骨芽細胞分化を抑制することを示した。すなわち、neogeninは、BMPと結合することで、多様に働くBMPシグナルを調節制御し、骨芽細胞分化抑制を行うことが示唆された。

本研究は、neogeninが、BMPシグナル及び、骨芽細胞分化に寄与していることを解明したという点で、神経研究分野と骨研究分野間に新たな展開をもたらすものであり、また、様々な組織で機能することが知られるBMPシグナルを制御する、新たな標的分子を示すものであることから、博士(医学)の学位授与に値する研究成果であると考えられる。