The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Successful induction of sclerostin in human-derived fibroblasts by 4 transcription factors and its regulation by parathyroid hormone, hypoxia, and prostaglandin E2
Author(s)	藤原, 誠
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61629
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　　名 Name	藤原　誠
論文題名 Title	Successful induction of sclerostin in human-derived fibroblasts by 4 transcription factors and its regulation by parathyroid hormone, hypoxia, and prostaglandin E2 （ヒト線維芽細胞において4つの転写因子の導入により発現誘導し得たスクレロスチンは、副甲状腺ホルモン、低酸素およびプロスタグランジンE2による制御を受ける）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

スクレロスチンは*SOST*がコードする分泌性蛋白質であり、骨細胞において特異的に発現し、WNTシグナル阻害による骨形成抑制作用を有する。*SOST*およびスクレロスチンの発現調節機構には未解明な点が多いが、その解析のために骨細胞を用いるには採取・培養における困難が多い。そこで我々は、採取容易なヒト皮膚線維芽細胞における*SOST*およびスクレロスチン発現の誘導を目指した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

ヒト骨肉腫由来株の骨芽細胞株Sa0S-2を分化または維持培養し、それぞれの発現遺伝子をマイクロアレイにより比較解析することで、*SOST*発現に関わる可能性のある転写因子を選択した。これらの因子をレトロウイルスベクターを用いてヒト線維芽細胞において強制発現させ、*SOST*発現を最も効果的に誘導し得る転写因子群を検索した。結果、ATF3, KLF4, PAX4, SP7の4因子の導入において、ヒト線維芽細胞における誘導*SOST*発現は対照と比べ1週で199倍、4週で1439倍の著明な増加を認めた。4因子はそれぞれ免疫組織染色により骨細胞に生理的に発現していることを確認したが、それぞれ単独では線維芽細胞において*SOST*発現を有意に誘導し得なかった。4因子導入後4週での線維芽細胞の培養上清におけるスクレロスチンをELISA法にて測定し得（平均21.2 pmol/l）、この培養上清がWNTシグナルを抑制することをレポーターアッセイにより確認した。

次に既知の*SOST*調節因子であるPTH、低酸素培養、PGE2について、誘導*SOST*およびスクレロスチンに対する発現制御を検討した。PTHは*SOST*発現抑制作用が知られるが、線維芽細胞での誘導*SOST*発現は、4週間のPTH 100nM添加により非添加の62.3 %に有意に抑制され、誘導スクレロスチン濃度も有意に減少した（非添加31.2 pmol/L、添加5.7 pmol/L）。また低酸素条件は生理的には*SOST*発現を増加させる報告があるが、4因子による線維芽細胞での誘導*SOST*発現は、正常酸素培養下と比し低酸素培養下では162 %の有意な増加を認めた。PGE2は骨細胞においてPGE2受容体のEP2またはEP4を介して*SOST*発現を抑制するが、PGE2の添加により、4因子による誘導*SOST*では非添加と比し16倍の有意な発現増加を認めた。4因子を導入した線維芽細胞では、EP1の発現のみが著明に誘導されており、EP1アンタゴニストONO-8130によりPGE2の線維芽細胞における誘導*SOST*発現増強強化が相殺されることから、4因子導入後の線維芽細胞ではEP1を介したPGE2による誘導*SOST*発現調節機構が存在する可能性が示唆された。

〔総　括(Conclusion)〕

我々は4つの転写因子ATF3, KLF4, PAX4, SP7の導入によりヒト皮膚線維芽細胞における*SOST*及びスクレロスチン発現誘導法を確立した。誘導*SOST*及びスクレロスチン発現は、既知の*SOST*調節因子であるPTHや低酸素により、骨細胞における内因的な*SOST*発現と同様の制御を受けた。またEP1を介したPGE2による未知の*SOST*発現節機構が存在する可能性も示された。今後この手法が正常または疾患特異的な*SOST*制御機構の解明、さらにはスクレロスチン阻害を戦略とした骨脆弱性疾患に対する創薬につながることが期待できる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　　藤原　誠

論文審査担当者		（職）	氏　　名
	主　査	大阪大学教授	大薗恵一
	副　査	大阪大学教授	吉川秀樹
	副　査	大阪大学教授	石井優

論文審査の結果の要旨

本研究では、骨細胞の産生する蛋白であるスクレロスチンを、皮膚線維芽細胞において発現誘導する手法を確立した。まず骨分化に応じた骨芽細胞の遺伝子発現の変化をマイクロアレイにて解析し、スクレロスチン発現に関わる可能性のある転写因子群を求めた。次にそれらを線維芽細胞に導入することで、実際に線維芽細胞において著明なスクレロスチンを発現し得た。発現誘導されたスクレロスチンは、その既知の生理的な発現調節因子である副甲状腺ホルモンや低酸素により発現制御を受けることを確認した。
スクレロスチンは骨形成を負に制御する因子として近年注目されているが、スクレロスチンを特異的に発現する骨細胞は、骨組織に内在し採取や培養が難しいため、その機序は未解明な点が多い。本研究はスクレロスチンの発現制御機構や、骨疾患特異的な病態におけるその役割の解明に寄与することが期待され、新規性と重要性の点から、申請者は博士（医学）の学位授与に値する。