

Title	WntアンタゴニストFRZBの関節軟骨における発現動態とその発現制御機構の解明
Author(s)	八木, 寛子
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61669
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 (八 木 寛 子)

論文題名 WntアンタゴニストFRZBの関節軟骨における発現動態とその発現制御機構の解明

論文内容の要旨

変形性関節症は、関節軟骨の変性、破壊、さらに骨棘形成により関節構造の変形と機能障害を招く運動器疾患で、膝関節、股関節に好発し、歯科領域においてもIV型顎関節症を引き起こす。変形性関節症の発症メカニズムは殆ど不明であるため、現在の変形性関節症の一般的な治療方法は、対症療法と人工関節置換術が主体である。したがって、より有効かつ非侵襲性の原因療法の確立が渴望されている。近年、Wntアンタゴニストであるfrizzled-related protein (FRZB)の遺伝子多型が変形性関節症の発症に関与することが報告されている。さらに*Frzb*ノックアウトマウスを用いた動物モデルにおいても変形性関節症が誘発されることが示されている。Wntシグナルは β -cateninを活性化して骨形成に重要な役割を果たす。一方、Wntシグナルは関節軟骨に対しては変形性関節症のリスクファクターと考え始められている。関節軟骨特異的に活性型 β -cateninを発現するトランスジェニックマウスは関節軟骨の破壊、変形性関節症マーカーであるMmp13発現上昇など変形性関節症の病態を呈する。以上からFRZBは関節軟骨におけるWntシグナルを抑制し、変形性関節症の抑止に貢献すると考えられる。そこで本研究は、FRZBの発現制御機構を解明することにより、変形性関節症の治療法の確立に寄与することを目指した。

*Frzb*は、マウスの様々な組織のうち、胸骨、四肢骨および肋骨において高い発現を示し、特に関節軟骨細胞において著明な発現を示した。この結果より、FRZBは関節軟骨の機能制御に関与する可能性が推察された。さらにIL-1 α が、関節軟骨および関節軟骨細胞を傷害するとともに、関節軟骨細胞における*Frzb*の発現を顕著に低下させた。以上の結果から、FRZBは関節軟骨代謝におけるバイオマーカーとなることが示唆された。そこでFRZB発現制御機構の解明を試みるためにその発現を誘導するサイトカインを検索した結果、BMP2がSmadシグナルを介してFRZBの発現を上昇させることを見出した。さらにFRZBの発現に関与する転写因子を探索した結果、OsterixおよびMsx2の過剰発現はFRZBの発現を促進した。一方、Runx2の過剰発現は効果を示さなかった。Runx2がFRZBの発現に関与しないことをさらに検証するため、Dominant-Negative Runx2 (DN-Runx2)を用いて検討したところ、DN-Runx2の過剰発現はBMP2誘導性のFRZB発現上昇を阻害しなかった。以上から、BMP2により誘導されるFRZBの発現に、Runx2が関与しないことが明らかとなった。次に、FRZB遺伝子プロモータールシフェラーゼコンストラクトを作製し、ルシフェラーゼ活性に対するOsterixならびにMsx2の効果を検討した。結果、OsterixおよびMsx2はFRZB遺伝子発現を促進する転写因子であることが示唆された。特に、Osterixは強いFRZB遺伝子転写活性効果を示したので、FRZB発現におけるOsterixの役割について評価した。SW1353細胞におけるOSTERIXのノックダウン実験およびクロマチン免疫沈降法より、OsterixがFRZB遺伝子プロモーターに結合し、FRZB遺伝子の発現において必須の転写因子であることが明らかとなった。さらに、免疫共沈降法により、OsterixとMsx2の相互関係を検討した結果、OsterixとMsx2の物理的結合が示された。

以上のように、FRZBは関節軟骨に高発現して、その恒常性維持に関与し、変形性関節症様の病態下ではその発現が著明に低下することから、FRZBは変形性関節症の治療標的分子となるだけでなく、診断および治療効果の判定にも応用できると期待される。また、SW1353細胞において、FRZBはBMP2-Smadシグナルにより発現誘導され、さらに転写因子OsterixおよびMsx2の相互作用を通じて、発現制御されていることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (八 木 寛 子)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 西 村 理 行
	副 査 教授 山 城 隆
	副 査 准教授 野 村 良 太
	副 査 講師 佐 藤 淳
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究は、Wnt アンタゴニスト FRZB の発現調節機構を検討するために、FRZB の発現動態と FRZB の発現誘導過程に関与する細胞内シグナルおよび転写因子について解析を行ったものである。</p> <p>その結果、<i>Frzb</i> がマウス関節軟骨細胞に高発現し、インターロイキン 1αがマウス関節軟骨細胞における <i>Frzb</i> の発現を低下させることを見出した。さらに、ヒト軟骨細胞様株 SW1353 において、BMP2 が Smad シグナルおよび転写因子 Osterix と Msx2 を介して FRZB の発現を誘導することを明らかにした。</p> <p>以上の知見は、変形性関節症をはじめとする関節軟骨疾患の病態に対する理解と治療法の開発に指針を提示するものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものである。</p>	