The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Krüppel-Like Factor4は一次繊毛のヘッジホッグシグナルを介して骨芽細胞の分化を抑制する |
| Author(s) | 竹内, 優斗 |
| Citation | 大阪大学, 2019, 博士論文 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://doi.org/10.18910/76191 |
| rights | |
| Note | |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

様式３

# 論　文　内　容　の　要　旨

| 氏　名　（　　竹内　優斗　　） | |
|---|---|
| 論文題名 | Krüppel-Like Factor4は一次繊毛のヘッジホッグシグナルを介して骨芽細胞の分化を抑制する |

論文内容の要旨

繊毛は，ほとんどの細胞が有している微小管を中心とした軸糸を繊毛膜が取り囲んだ構造をもつ細胞小器官であり，運動性の繊毛と非運動性の繊毛がある．運動性の繊毛は，細胞の推進力を生み出す，もしくは細胞外液を動かすといった機能を有している．これに対して，非運動性の繊毛は，一次繊毛とも呼ばれ，単体では移動することがなく，細胞周囲の外部環境もしくは細胞からのシグナルを伝達するアンテナとしての機能を果たしている．一次繊毛の形成は$G_0/G_1$期への移行で生じるとされ，細胞周期と密接に関係している．一次繊毛の正常な形成や機能は，骨格系の正常な発生や恒常性の維持に必要不可欠であり，それらは骨や軟骨の発生に重要なシグナル経路を介して制御されている．一次繊毛はそれらのシグナルを繊毛膜に局在する特異的な受容体を介して伝達している．その中の代表的なものであるヘッジホッグシグナルは，そのリガンドがPatchedと呼ばれる細胞表面の受容体に結合するところから開始され，Patchedを介在して抑制されていたSmoothened (SMO) の機能を活性化させる．その結果，繊毛膜上にあったPatchedは繊毛外へ，活性化したSMOは繊毛内へ移動し，Suppressor of Fusedタンパクの作用を抑制することで，ヘッジホッグシグナルの下流因子であるGliタンパクを活性化させる．一次繊毛の機能障害は骨・軟骨の異常だけでなく，視覚・嗅覚消失や内蔵逆位などといった広範囲の臓器に及ぶ疾患に関与しており，それらは繊毛病と呼ばれる．しかしながら，一次繊毛の形成と骨芽細胞における骨関連因子によって調整されているかどうかについてはほとんど不明である．

Krüppel-Like Factor 4 (KLF4) は，zinc fingerタイプの転写因子で，上皮や内皮の最終分化に必須の因子である．近年，KLF4は骨芽細胞の分化を抑制することが報告されているが，その詳細な機序に関しては不明な点が多い．培養細胞では，細胞の増殖を停止させるとKLF4の産生が誘導される．またKLF4の発現を細胞に促すと，細胞の分裂は停止する．KLF4におけるこれらの性質と一次繊毛の性質を踏まえ，本研究ではKLF4と一次繊毛の形成や機能に何らかの関連性があると仮設を立て実験を行った．

GFPおよびKLF4を過剰発現させたマウス頭蓋冠由来の初代骨芽細胞の培養条件を変え，免疫染色を行い，一次繊毛を有する骨芽細胞の割合を比較したところ，培養液を交換せずに培養を行った場合，GFPに対してKLF4を発現させた骨芽細胞では一次繊毛を有する細胞の割合が増加していた．繊毛の形成を促した培養条件の場合，GFPとKLF4をそれぞれ発現させた骨芽細胞では一次繊毛を有する細胞の割合が同程度であった．そして，繊毛の退縮を促した培養条件の場合，GFPに対してKLF4を発現させた骨芽細胞では一次繊毛の退縮が減少していた．また，KLF4を発現させた骨芽細胞のSEM画像では，いずれの培養手法においても一部の一次繊毛の長さが矮小化していることが確認できた．リアルタイムPCR法を用いて遺伝子発現解析を行ったところ，KLF4を過剰発現させた骨芽細胞ではヘッジホッグシグナルの下流因子であるGli1の発現が減少していた．繊毛の形成に必要不可欠な分子であるIft88を欠失させた場合，KLF4によるヘッジホッグシグナルの回復が見られた．さらに，ヘッジホッグシグナルを担う膜タンパクであるSMOのアゴニストを投与し骨芽細胞を培養すると，KLF4を発現させた骨芽細胞では，石灰化の上昇が認められた．そこで，KLF4によって誘導される遺伝子発現量をマイクロアレイにて包括的に解析したところ，核内オーファンレセプターであるPregnane X receptor (PXR) を含めた多数の遺伝子が見出された．これらの遺伝子に対して，骨芽細胞の石灰化の程度を確認したところ，PXRはKLF4と同様に石灰化を抑制し，またヘッジホッグシグナルを抑制していることが判明した．本研究の結果は，KLF4が一次繊毛を介するシグナル経路を部分的に制御することによって，骨芽細胞の分化を抑制している可能性を示唆している．

様式 7

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏　名　（　竹内　優斗　） | | | |
|---|---|---|---|
| 論文審査担当者 | | （職） | 氏　名 |
| | 主 査 | 教授 | 脇坂　聡 |
| | 副 査 | 教授 | 田熊　一敞 |
| | 副 査 | 准教授 | 波多　賢二 |
| | 副 査 | 講師 | 宇佐美　悠 |

**論文審査の結果の要旨**

本研究は、骨芽細胞の分化を抑制することが報告されている Krüppel-Like Factor 4 (KLF4) が、骨格系の正常な発生や恒常性の維持に必要不可欠である一次繊毛の形成や機能に与える影響について分子生物学的手法を用いて解析を行ったものである。

その結果、KLF4 は一次繊毛の形成および一次繊毛を介在するヘッジホッグシグナルを抑制することで、骨芽細胞の分化を抑制しており、また核内受容体である Pregnane X receptor (Pxr)が KLF4 の下流でヘッジホッグシグナルを抑制している可能性が示唆された。

以上の研究成果は、一次繊毛の機能障害によって生じる様々な骨系統疾患のメカニズム解明の一旦を担うものであり、博士 (歯学) の学位授与に値するものと認める。