

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1101 号	氏 名	植 村 一 貴
論文審査担当者	主 査 樋 口 京 一 副 査 菅 野 祐 幸 ・ 杠 俊 介		
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>腱は細胞や血管が乏しいため、一度損傷されると修復が困難である。過去の腱に関する研究は生体力学的な研究が多く、他の間葉系組織と比較すると分子生物学的アプローチによる研究は少なかった。近年、腱の発生や分化に関連する転写因子や増殖因子が注目されているが、腱細胞の分化メカニズムは明らかになっていない。腱細胞の分化メカニズムを明らかにするため、多分化能を持つマウス筋芽細胞株 (C2C12) を用いて腱細胞への分化を促進する増殖因子を同定し、腱細胞への分化を誘導するシグナル伝達経路を明らかにすることを目的に研究を行った。</p> <p>まず C2C12 とマウス胚細胞由来線維芽細胞株 C3H10T1/2 における、腱前駆細胞のマーカー (Scleraxis) の発現量を比較した。次に腱細胞の分化を誘導する増殖因子のスクリーニングとして、C2C12 を無血清培地で培養し、腱細胞の分化を誘導することが予想される増殖因子 (GDF-5、GDF-6、GDF-7、GDF-8 (Myostatin)) を添加、培養 5 日目に real-time PCR による腱細胞特異的マーカー (Tenomodulin) と筋細胞特異的マーカー (Myogenin, MyoD)、脂肪細胞特異的マーカー (CEBP β、PPAR γ) を定量した。最も Tenomodulin の発現を促進した Myostatin について、用量・時間による Tenomodulin 発現の変化の定量と、Tenomodulin と Myogenin の免疫染色を行った。さらに Myostatin と共にシグナル伝達経路の阻害剤を添加して各マーカーの定量を行った。最後に C2C12 にシグナルの伝達因子である Smad2、Smad3 の siRNA を導入して同様に各マーカーを定量した。</p> <p>その結果、植村は次の結論を得た</p> <ol style="list-style-type: none">1. C2C12 では C3H10T1/2 よりも Scleraxis を多く発現していた。2. 各増殖因子のうち Myostatin を添加した際の Tenomodulin の発現量が最も高かった。3. Myostatin 添加 5 日目で Tenomodulin の発現が最高値となり、また用量依存的に Tenomodulin の発現が増加した。4. 免疫染色では Myostatin の添加により Myogenin の発現は減少し、筋管細胞の形成が抑制され、Tenomodulin の発現を認めた。5. Smad2/3 を介する伝達経路を阻害する ALK 阻害剤により Tenomodulin の発現が有意に抑制された。6. Smad3 の siRNA 導入により、Tenomodulin の発現は抑制された。 <p>これらの結果より、C2C12 は腱前駆細胞の性質を持ち、Myostatin の刺激によって、筋細胞への分化が抑制され腱細胞への分化が誘導される事が確認された。また Myostatin は Smad3 を介するシグナル伝達経路を活性化することにより筋芽細胞から腱細胞への分化を誘導していることも明らかとなった。本研究により確立された腱細胞培養系は、今後腱細胞分化や損傷腱の修復に関する分子生物学的な研究を進めていく上で有用であると考えられる。よって主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			