

CCAAT/Enhancer-binding Protein β Regulates the Repression of Type II Collagen Expression during the Differentiation from Proliferative to Hypertrophic Chondrocytes

牛島, 貴宏

<https://doi.org/10.15017/1441114>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（医学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏 名：牛島 貴宏

論文題名：CCAAT/Enhancer-binding Protein β Regulates the Repression
of Type II Collagen Expression during the Differentiation
from Proliferative to Hypertrophic Chondrocytes

(増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化の過程で
CCAAT/Enhancer-binding Protein β は II 型コラーゲンの発現を抑制する)

区 分：甲

論 文 内 容 の 要 旨

軟骨分化の過程では、間葉系幹細胞が凝集し軟骨細胞へと分化した後に増殖を始め、軟骨特異的細胞外基質である Type II Collagen(COL2A1)や Aggrecan(Acan)などの産生が見られる。その後、増殖を停止した細胞は肥大軟骨細胞となり、Type X Collagen(COL10A1)を産生し、Matrix Metalloproteinase 13(MMP13)や Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF)を分泌し、骨芽細胞などが侵入し骨へと置換されていく。CCAAT/Enhancer-binding Protein β (C/EBP β)は、軟骨分化の過程で COL10A1 や MMP13 の発現を促進し、肥大軟骨細胞への分化に関与することが報告されているが、増殖軟骨細胞への作用は明らかとなっていない。今回、C/EBP β が *Col2a1* の発現を直接抑制、あるいは *Col2a1* の重要な転写調節因子である Sex-determining region Y-type high mobility group box 9 (SOX9)を介して間接的に抑制することで、増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化を促進していることを証明した。

胎児マウスの成長軟骨板および分化した軟骨様培養細胞株 ATDC5 において、C/EBP β と COL2A1 および SOX9 は相反する発現パターンを示した。ATDC5 に C/EBP β を過剰発現させると、*Col2a1* の mRNA 発現は著明に抑制された。*Sox9* の mRNA および核内タンパクも著明に抑制され、クロマチン免疫沈降で *Col2a1* エンハンサー領域への SOX9 の結合は低下した。shRNA により C/EBP β をノックダウンさせた ATDC5 安定株では、*Col2a1* と *Sox9* の mRNA 発現は有意に増加した。レポーターアッセイでは、C/EBP β は *Col2a1* の転写活性を抑制した。*Col2a1* 配列に削除および点変異を導入することにより、*Col2a1* エンハンサー領域の+2144~+2152 bp に C/EBP β の結合部位が存在することが考えられた。ゲルシフトアッセイおよびクロマチン免疫沈降で、この部位への C/EBP β の特異的な結合を確認した。胎児マウスより採取した脛骨を器官培養し免疫組織化学染色を行ったところ、C/EBP β の過剰発現により COL2A1 および SOX9 の発現は低下した。以上より、C/EBP β は *Col2a1* を直接、あるいは *Sox9* を介して間接的に抑制することで、増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化を促進していることが示唆された。