

# CCAAT/Enhancer-binding Protein $\beta$ 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）

## 論文審査の結果の要旨

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)や Matrix Metalloproteinase 13 (MMP13)、Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)を発現するようになり、最後にアポトーシスを起こし、血管とともに侵入した骨芽細胞によって骨へと置換されていく。CCAAT/Enhancer Binding Protein  $\beta$  (C/EBP $\beta$ )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。

そこで申請者は一連の実験を行い、以下の点を明らかにした。

1. 胎仔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 の双方において、C/EBP $\beta$ の発現とCOL2A1 およびその発現を調節する転写因子SOX9 (Sex-determining region Y-type high mobility group box 9) の発現は逆相関を示すこと
2. ATDC5 細胞において C/EBP $\beta$  を過剰発現すると、COL2A1 および SOX9 の発現が減弱し、SOX9 の *Col2a1* エンハンサーへの結合も検出されなくなること
3. ATDC5 細胞において C/EBP $\beta$  をノックダウンすると、COL2A1 および SOX9 の発現が増加すること
4. レポーターアッセイにおいて C/EBP $\beta$  は *Col2a1* エンハンサー依存的に *Col2a1* プロモーターの活性を抑制し、その抑制はエンハンサー内の+2144~+2152 bp 領域に存在する C/EBP $\beta$  結合モチーフへの変異で消失すること
5. ゲルシフトアッセイおよびクロマチン免疫沈降の結果は C/EBP $\beta$  の上記モチーフへの結合を示唆すること
6. 胎仔マウス脛骨の器官培養においても C/EBP $\beta$  の過剰発現が COL2A1 および SOX9 の発現を低下させること

以上の結果は、C/EBP $\beta$  が *Col2a1* 遺伝子の発現を直接あるいはSOX9 を介して間接的に抑制することによって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示唆するものであり、この方面の研究に知見を加えた意義あるものと考えられる。

本論文についての試験は、まず研究目的・方法・実験結果などについて説明を求め、各調査委員により専門的な観点から論文内容及びこれに関連した事項について種々の質問を行なったが、いずれについてもおおむね満足すべき回答を得た。

よって、調査委員合議の結果、試験は合格と決定した。