

スフィンゴシン-1-リン酸は骨芽細胞において S1PR2/RhoA/ROCK/Smad1/5/8 経路を介し Runx2 発現 を増加させる

東, 克匡

<https://hdl.handle.net/2324/1654780>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（歯学）, 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（3）



氏 名 : 東 克匡

論 文 名 : スフィンゴシン-1-リン酸は骨芽細胞において
S1PR2/RhoA/ROCK/Smad1/5/8 経路を介し Runx2 発現を増加させる

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

骨組織は、骨芽細胞による骨新生と破骨細胞による骨吸収のバランスによって恒常性が維持されている。これまでに申請者らは、脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) が phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt/ β -カテニン経路を介し骨芽細胞分化を促進させることを報告したが、この経路の活性化には 5 つの S1P 受容体のうち S1PR1 が関与していた。一方、骨芽細胞分化関連遺伝子であるアルカリフォスファターゼ (ALP) の発現には、S1PR1 だけでなく S1PR2 も関与するとの知見を得たことから、骨芽細胞分化における S1PR2 を介した新たなシグナル伝達経路が存在する可能性が考えられた。ALP は、BMP シグナル伝達経路の標的遺伝子であり、S1P は BMP シグナル伝達経路で重要な Smad1/5/8 の BMP-2 誘導性のリン酸化を亢進させるという報告があることから、本研究では、骨芽細胞分化における S1PR2/Smad1/5/8 を介した新規 S1P シグナル伝達経路について検索することとした。

マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 において、S1P は、S1PR2 を介して細胞骨格の形成に重要な RhoA を活性化した。また、S1P 添加により Smad1/5/8 リン酸化が亢進したが、この作用は S1PR2 の阻害剤である JTE-013 により抑制され、また RhoA 阻害剤の C3 toxin および ROCK 阻害剤の Y27632 により、阻害剤の濃度依存性にリン酸化が抑制された。一方、Smad には R-Smad (receptor-regulated Smad) である Smad1/5/8 の他に、リン酸化 Smad1/5/8 と複合体を形成し、核内で R-Smad とともに転写因子として働く Co-Smad (common-mediator Smad) である Smad4、ならびに Smad1/5/8 リン酸化や、Smad4 との複合体形成を阻害する I-Smad (inhibitory Smad) である Smad6/7 があり、S1P がこれらの Smad に及ぼす影響についても検討した。S1P は Smad4 の核移行、及び Smad6/7 の核内発現量を同時に増加させたが、S1PR2/RhoA の阻害によりこれらは抑制された。さらに、S1P は Smad の標的遺伝子で骨芽細胞分化に重要な runt-related transcription factor 2 (Runx2) の mRNA 発現、タンパク質発現を増加させたが、S1PR2/RhoA/ROCK の阻害により Runx2 タンパク質発現が抑制されることが明らかとなった。S1P により増加した Smad6/7 は、Runx2 の negative regulator として働く可能性が考えられる。

以上から、S1P は S1PR2/RhoA/ROCK/Smad1/5/8 経路を介して Runx2 発現を増加させ、骨芽細胞分化を促進する可能性が示唆された。すなわち、S1P による骨形成促進作用には、従来のシグナル経路とは異なる新たな経路が存在することを明らかにした。