

# FOXO1 transcription factor regulates chondrogenic differentiation through transforming growth factor $\beta$ 1 signaling

倉員, 市郎

<https://hdl.handle.net/2324/4060050>

---

出版情報 : Kyushu University, 2019, 博士 (医学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : © 2019 Kurakazu et al. Published under exclusive license by The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc.

氏 名：倉員 市郎

論 文 名：FOXO1 transcription factor regulates chondrogenic differentiation through transforming growth factor  $\beta$ 1 signaling

(FOXO1 転写因子は TGF $\beta$ 1 シグナルによる軟骨分化を制御する)

区 分：甲

## 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】軟骨分化過程においては、様々な因子が複合的に作用しており、そのメカニズムについては依然として不明な点が多い。Forkhead box O (FOXO)は様々な細胞において、その分化に関わる転写因子として知られている。近年、FOXO ノックアウトマウスにおける成長軟骨板の形態異常が報告され、FOXO が軟骨分化に関わる可能性があるが、詳細なメカニズムは不明である。本研究では、FOXO が軟骨分化に関わるメカニズムを検証した。

【方法】*in vitro* 軟骨分化モデルとして知られる ATDC5 細胞株、マウス肢芽由来間葉細胞、ヒト間葉系幹細胞の軟骨分化過程における FOXO の発現パターンおよび FOXO 抑制による軟骨分化への影響を検証した。軟骨分化における FOXO 発現の制御因子としての TGF $\beta$ 1 の作用を解析した。FOXO の軟骨分化における細胞周期に及ぼす作用について検証した。

【結果】ATDC5 細胞株、マウス胎芽由来間葉細胞、ヒト間葉系幹細胞の全てにおいて、FOXO1 の発現が軟骨分化とともに増加した。阻害剤および siRNA によるノックダウンにより FOXO1 を抑制すると、それぞれの細胞において、軟骨分化が阻害された。ATDC5 に TGF $\beta$ 1 を投与すると、FOXO1 の遺伝子およびタンパク発現が増加し、SMAD3 を阻害剤および siRNA によるノックダウンにより抑制すると、TGF $\beta$ 1 による FOXO1 の発現増加が抑制された。FOXO1 ノックダウンにより、TGF $\beta$ 1 による *Sox9*、*Col2a1*、*Acan* の遺伝子発現増加が阻害された。一方で、FOXO1 阻害剤では、*Col2a1*、*Acan* の発現増加は阻害されたが、*Sox9* の発現は抑制されなかった。このため、軟骨分化の必須転写因子と言われる SOX9 の制御を介さず、FOXO1 が軟骨分化に関与する可能性が考えられた。そこで、FOXO1 の細胞周期に対する作用を検証すると、FOXO1 阻害剤は、軟骨分化に伴う p21 の発現を抑制し、G0/G1 期における細胞周期停止を阻害した。一方で、FOXO1 過剰発現により、p21 の発現と細胞周期停止が促進された。さらに、FOXO1 阻害剤は TGF $\beta$ 1 による p21 の新生 RNA の発現を抑制し、ChIP アッセイにより、TGF $\beta$ 1 投与下に FOXO1 が p21 のプロモーター領域に結合することを確認した。p21 阻害剤は、ATDC5 の軟骨分化における *Col2a1* および *Acan* の発現を抑制した。

【結論】FOXO1 は、TGF $\beta$ 1 シグナルによる軟骨分化において、SOX9 の発現に加え、細胞周期停止を制御し、軟骨分化に必須の転写因子であることが明らかとなった。

