九州大学学術情報リポジトリ Kyushu University Institutional Repository

F0X01 transcription factor regulates chondrogenic differentiation through transforming growth factor β 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.

(別紙様式2)

氏 名	倉員 市郎
論 文 名	FOXO1 transcription factor regulates chondrogenic
	differentiation through transforming growth factor β 1
	signaling
論文調査委員	主 査 九州大学 教授 中山 敬一
	副 査 九州大学 教授 目野 主税
	副 査 九州大学 教授 小野 悦郎

論文審査の結果の要旨

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、Type II collagen (Col2) Cre-Foxo1ノックアウトマウスおよびC ol2-Cre-Foxo1,3,4トリプルノックアウトマウスにおいて、成長軟骨板の形態異常が見 られることが報告された。さらに、いくつかの細胞種において、FOXOの発現や活性 が、軟骨分化に重要な成長因子の一つであるtransforming growth factor β1 (TGFβ1) により促進されるという報告も散見される。そこで、本研究では、マウスATDC5細 胞株、マウス肢芽由来間葉系細胞、ヒト間葉系幹細胞を用いて、FOXOが軟骨分化に 関わる機序について検証した。まず、軟骨分化過程において、FOXO1の発現が増加 し、FOXO1の抑制が軟骨分化作用を阻害することを明らかにした。さらに、TGFB1/ SMADシグナルがFOXO1の発現および活性を促進することを示した。ATDC5におい て、siRNAによるFOXO1ノックダウンは、軟骨分化における必須転写因子であるsexdetermining region Y box 9 (Sox9)のTGFβ1刺激による発現増加を阻害し、その結果、 軟骨基質の主要成分であるcollagen type II alpha 1 (Col2a1)とaggrecan (Acan)の遺 伝子発現も抑制された。一方で、FOXO1阻害剤によるFOXO1の阻害は、Sox9の発現 を抑制しないにも関わらず、siRNAと同様に、Col2a1とAcanの発現を抑制した。そこ で、FOXO1が、SOX9を介さずに、軟骨分化を制御する機序を調べるために、FOXO 1が細胞周期に及ぼす影響について検証した。FOXO1の抑制は、軟骨分化に伴うp21 の発現およびG0/G1期での細胞周期停止を阻害した。逆に、FOXO1を過剰発現させる と、p21の発現と細胞周期停止が促進された。さらに、FOXO1の阻害は、TGFβ1によ るp21の新生RNAの発現を抑制し、ChIPアッセイによりFOXO1がp21のプロモーター 領域に結合することを示した。最後に、p21の阻害剤により、ATDC5の軟骨分化にお けるCol2alおよびAcanの発現が抑制されることを確認した。本研究で、FOXO1は、T GFβ1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になった。

以上の成績は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論文の研究目的、方法、実験成績などについて説明を求め、 各調査委員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質問を行ったがいずれについても適切な回答を得た。

なお本論文は共著者多数であるが、予備調査の結果、本人が主導的役割を果たしていることを確認した。

よって調査委員合議の結果、試験は合格と決定した。