

FOXO1 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*Col2-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 β 1 (TGF β 1)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、TGF β 1/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*sex-determining region Y box 9 (Sox9)*のTGF β 1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、FOXO1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、TGF β 1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*Col2a1*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、TGF β 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。