

学位授与番号：甲 1060 号

氏 名：嘉山 智大

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 30 年 2 月 14 日

学位論文名：

Gtf2ird1-dependent Mohawk expression regulates mechanosensing properties of the tendon.

(Gtf2ird1 を介した Mohawk (Mkx) のメカノセンシング機構解析)

学位論文審査委員長：教授 吉田清嗣

学位論文審査委員：教授 岡部正隆 教授 安保雅博

論文要旨

氏名	嘉山 智大	指導教授名	丸毛 啓史
----	-------	-------	-------

主論文

Gtf2ird1-dependent *Mohawk* expression regulates mechanosensing properties of the tendon

(*Gtf2ird1*を介した *Mohawk* (*Mkx*)のメカノセンシング機構解析)

Tomohiro Kayama, Masaki Mori, Yoshiaki Ito, Takahide Matsushima, Ryo Nakamichi, Hidetsugu Suzuki, Shizuko Ichinose, Mitsuru Saito, Keishi Marumo, Hiroshi Asahara

Molecular and Cellular Biology. 2016; 36: 1297-1309.

要旨

【背景・目的】

人体は様々な形で外部より刺激を感知する。運動器では特に大きな外力が加わるが、臓器や細胞がどのようにメカニカルシグナルを感知して伝達シグナルへと変換し、応答するのかを解明することが課題となっている。腱・靭帯は主にI型コラーゲンとプロテオグリカンを含む細胞外マトリックスから成り立ち、その間に存在する少数の腱細胞がリモデリングを促している。本研究では近年腱の発生と成熟に重要とされている腱・靭帯特異的遺伝子 *Mohawk* (*Mkx*)の機能解析を目的とした。

【方法】

本研究ではメカニカルストレスが *Mkx* やその下流遺伝子への影響を調べるためマウスのトレッドミル負荷実験、及び腱細胞の *in vitro* 伸展実験を行なった。さらに、転写因子ライブラリーで functional screening を用い *Mkx* 上流遺伝子探索を行い、候補遺伝子の解析を行なった。qRT-PCR、ウェスタンブロット、免疫染色、TEMにてメカニカルストレスの影響を解析し、上流遺伝子の *Mkx* 結合領域解析のため ChIP-qPCR を行なった。

【結果】

Mkx が *in vivo* と *in vitro* でメカニカルストレスに応答することを示した。*Col1* や *Fmod* などの腱関連遺伝子の発現によりコラーゲン線維の増大と密度の増加が起こることを発見した。*Mkx* の上流遺伝子の網羅的な解析により *Gtf2ird1* 遺伝子を見だし、腱細胞の伸展により通常細胞質内に存在する *Gtf2ird1* が核内移行することが判明した。*Gtf2ird1* はヒストン修飾を介し *Mkx* の上流に結合することが確認された。

【結論】

本研究では腱細胞がメカノシグナルを感知し、*Gtf2ird1* の核内移行を促進し、*Mkx* の上流領域に結合することを見出した。*Gtf2ird1* が *Mkx* の転写に重要であり、下流の腱関連遺伝子発現により腱コラーゲンと架橋の成熟に重要であることを発見した。本研究を基盤として、困難とされている腱・靭帯の再生と修復へ繋がることを期待される。

学位論文審査結果の要旨

嘉山智大氏の学位申請論文は主論文1編からなり、主論文の邦題は「Gtf2ird1を介したMohawk(Mkx)のメカノセンシング機構解析」で2016年のMolecular and Cellular Biology誌に掲載された。以下、論文の要旨と審査委員会の審査結果を報告する。

平成30年1月29日、岡部正隆教授、安保雅博教授ご臨席のもと、公開学位審査会を開催し、嘉山氏による研究概要の発表に続いて口頭試験を行った。席上、

- ・スクレアキシス遺伝子はモホークの下流遺伝子としての位置付けなのか？
- ・モホークノックアウト細胞においてRanx2などの間葉系細胞の分化誘導遺伝子発現の上昇は見られるのか？
- ・Ets2が制御遺伝子の可能性はあるのか？
- ・アキレス腱断裂などにもこのようなストレス刺激は有用か？
- ・ストレス応答性のGtf2ird1遺伝子の核移行はどのようなメカニズムか？
- ・Gtf2ird1の活性化機構とヒストンメチル化との関連について

など20に及ぶ多くの質問があり、嘉山氏はこれまでの文献情報も交えながら極めて的確に回答し、活発な議論がなされた。その後、岡部、安保両教授と慎重に審議した結果、本論文は腱・靭帯特異的遺伝子モホークノックアウトマウスの解析を基盤に腱の伸展耐久、およびメカニカルストレスに着目しモホーク遺伝子を介した運動応答性の分子メカニズム解明に至ったことと、本研究の成果から新規治療に繋がる可能性が期待され、学位論文として十分価値があるものと認めた次第である。