

## 審査の結果の要旨

氏名 齋藤 琢

本研究は軟骨変性疾患に対する新たな治療法の手がかりとして、軟骨細胞の発生・分化のマスター遺伝子である SOX9, SOX5, SOX6 (SOX trio) の下流分子の検索、および候補遺伝子の検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. SOX trio の下流遺伝子をマイクロアレイ法によってスクリーニングし、Real-time RT-PCR 法でその誘導を確認したところ、SOX trio により最も強く誘導されていたのが S100A1 と S100B であった。この誘導は、調べた細胞種全てに共通してみられた。
2. 免疫組織染色法と in situ hybridization 法によって正常マウス胎児の成長板における発現を調べたところ、S100A1, S100B は成長板軟骨に広く発現がみられたが、特に前肥大軟骨細胞層から肥大軟骨細胞層にかけて強く発現していた。これは SOX trio の発現部位とほぼ重複するが、S100A1, S100B の発現のピークは SOX trio のそれより若干遅れていた。また軟骨系細胞株 ATDC5 細胞の分化における発現の経時的な変化を調べたところ、やはり S100A1, S100B は SOX trio にやや遅れて発現が増加していた。
3. S100A1, S100B の軟骨分化における機能を解析するために ATDC5 細胞に S100A1 もしくは S100B を過剰発現させたところ、肥大分化と石灰化は抑制され、反対に S100A1 と S100B の両方を RNAi により抑制すると肥大分化と石灰化は促進された。また ATDC5 細胞のペレット培養系において検討したところ、S100A1+S100B による肥大分化抑制作用が SOX trio によるそれと同等であった。さらにこの SOX trio による肥大分化抑制作用は、S100A1+S100B の siRNA によって打ち消された。
4. プロモーター解析と Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)、クロマチン免疫沈降アッセイ (ChIP) により、S100A1 と S100B のプロモーター内の SOX trio の応答配列も同定した。

以上、本研究は S100A1 と S100B が SOX trio の標的分子として、軟骨細胞の肥大分化、石灰化を抑制することを明らかにした。本研究は、新たな軟骨分化制御の解明のみならず変形性関節症の予防・治療にも繋がる、重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。