

課題番号 19

## 軟骨細胞に対する力学刺激と SOX9 遺伝子の 協調的作用の解析

### [1] 組織

代表者：乾 雅史

(明治大学農学部)

対応者：久保 純

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 26 万円，旅費 4 万円

### [2] 研究経過

脊椎動物の骨格の伸長は軟骨細胞の増殖及びそれに伴う収斂と伸長（**convergent extension (CE)**）運動による。そのため CE が正常でない変異マウスでは骨が短く太くなる事が示されているが、近年発生中の胚から骨格筋による張力が失われると CE 運動が阻害される事が報告された。一方申請者が作成した軟骨分化のマスター転写因子 Sox9 の機能亢進型点変異マウス（SOX9K396R マウス）においても細胞の収斂が阻害されて骨が太く短くなっていることを見いだした。これらの結果は Sox9 遺伝子の活性と骨格筋による張力が共に軟骨細胞の CE 運動に必要である事を示している。本研究計画ではこの二つの因子の軟骨細胞に対する協調的な作用について検討することにより細胞外からの情報（力学刺激）と細胞内の状況（Sox9 活性）が細胞内で統合されるメカニズムを明らかにすることを目的とする。本年度は特に軟骨細胞に対する力学刺激により上昇することが報告されている遺伝子 A（未発表のため名称は伏す）について、SOX9K396R マウスでは発現が減少し、SUMO-SOX9 の過剰発現では発現が上昇していたことからこの遺伝子に焦点を当てて研究を行った。

本年度は 1 月 26-27 日の 2 日間にわたり加齢研において打ち合わせ及び実験を行い、その前後の代表者の所属機関での実験と合わせて以下のような研究成果を得た。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

サイクリックな伸展刺激による軟骨細胞における遺伝子 A の発現変化の解析

初代培養軟骨細胞をフィブロネクチンコートされたストレッチチャンバー（ストレッチス）に  $5 \times 10^5$  細胞ずつ播種し、翌日生着を確認したのちに伸展率 13%、0.5Hz の条件で 24 時間に渡って伸展刺激を与えた。その後軟骨細胞から total RNA を抽出し、遺伝子 A の発現を定量的 PCR によって解析した。その結果、予想に反して野生型の軟骨において伸展刺激による遺伝子 A の上昇が観察されず、また K396R 変異マウスの軟骨細胞では伸展刺激によりその発現が低下した（図 1）。

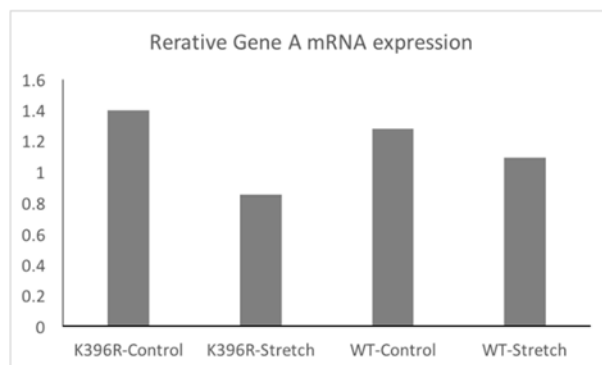


図 1：軟骨細胞に伸展刺激を与えた際の遺伝子 A の相対的発現レベル

この結果は伸展刺激の強度や持続時間によって遺伝子 A に対する発現制御が異なる可能性を示唆しているとともに、野生型と SOX9K396R 変異マウスにおける伸展刺激応答が異なることから遺伝子 A の発現に対して SOX9 の SUMO 化が関与するとの仮説を支持する。今後は伸展刺激の条件を増やすなどの条件検討を行い、この仮説をさらに検証する必要がある。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究では上記のような実験の成果に加え代表者が加齢研での共同研究を行った際に対応者の研究室で多岐にわたるディスカッションを行ったことで、代表者・対応者それぞれに有用な研究のアイデアや手法のアドバイス、今後の共同研究の方向性などの波及効果が得られ、加齢研と学外の共同研究者との交流が促進された。

[ 4 ] 成果資料

( 1 ) Asahara H, Inui M, Lotz M. Tendons and Ligaments: Connecting Developmental Biology to Musculoskeletal Disease Pathogenesis. *J Bone Miner Res.* 2017 32(9):1773-1782