



Title	Osteoadherin serves roles in the regulation of apoptosis and growth in MC3T3 E1 osteoblast cells [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	浜谷, 絵里
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第13878号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/78223
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Eri_Hamaya_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 浜谷 絵里

審査担当者	主査	教授	田村	正人
	副査	教授	網塚	憲生
	副査	教授	飯村	忠浩

学位論文題名

**Osteoadherin serves roles in the regulation of apoptosis
and growth in MC3T3-E1 osteoblast cells**

(オステオアドヘリンは MC3T3-E1 骨芽細胞においてアポトーシス
と細胞増殖を制御する)

審査は、審査担当者全員の出席の下、公聴会として行われ、申請者より論文内容の概要の説明が行われた。その後、論文内容および関連した学問分野について審査担当者が質問し、申請者が回答する形で行われた。申請者は論文の概要について以下のよう

に説明した。

スモールロイシンリッチプロテオグリカン(SLRP)は、小型のコアタンパク質を有しその中央部にロイシン残基に富んだ繰り返し配列を有するプロテオグリカンである。オステオアドヘリン(Omd)は、SLRP の一つであり、骨や象牙質といった石灰化組織に特異的に存在することが報告されている。本研究では、骨芽細胞における Omd の機能を明らかにすることを目的とした。

まず MC3T3-E1 細胞（骨芽細胞）、C2C12 細胞（筋芽細胞）、3T3-L1 細胞（脂肪細胞）、ST2 細胞（骨髄間質細胞）および bEnd.3 細胞（血管内皮細胞）を培養後、全 RNA を抽出し、各種 SLRP の発現を RT-PCR 法を用いて調べた。ビグリカンはいずれの細胞でも発現し、Omd は MC3T3-E1 細胞のみに発現していた。MC3T3-E1 細胞を培養し Omd の発現を調べた。Omd 発現レベルは 1 週間培養後から増加し 3 週間後には更に増加した。

Bone morphogenetic protein (BMP)2 は C2C12 細胞の骨芽細胞への分化を誘導することが知られている。そこで、C2C12 細胞における BMP2 添加による Omd 発現レベルを調べた。添加した BMP2 の濃度依存的に Omd 発現レベルは増加し、また添加後の時間に依存して Omd 発現レベルは増加した。Omd の BMP2 による発現調節について明らかにするために、マウス Omd 遺伝子のプロモーター領域 1.7kb をクローニングし

ルシフェラーゼレポーターpOmd-Luc を作成した。このレポータープラスミドを C2C12 細胞にトランスフェクトし、ルシフェラーゼアッセイを行い転写活性について解析した。BMP2 の添加および Smad1/4 発現プラスミドの導入によって、ルシフェラーゼ活性が増加した。これらより、Smad シグナルが Omd の転写活性を制御していること、Omd 遺伝子の転写開始点上流に Smad1/4 応答領域の存在が考えられた。先行研究において骨芽細胞における Neuropeptide Y レセプター-1 (Y1 レセプター) の機能が明らかにされている。そこで、Y1 レセプターと Omd の機能関連を探るため、MC3T3-E1 細胞において Y1 レセプターの発現をノックダウンさせ、リアルタイム PCR 法を用いて Omd 発現を調べた。Omd 発現は Y1 レセプターの siRNA のトランスフェクションによって増加した。

Omd の骨形成における役割をさらに明らかにするために、Omd 過剰発現とノックダウンによる細胞増殖、アポトーシス誘導および骨芽細胞分化へ対する影響を調べた。Omd の発現プラスミドを作成し、これを MC3T3-E1 細胞にトランスフェクトし Omd を過剰発現させた。これにより、Cell counting kit-8 を用いた測定で生細胞数が増加し、caspase3/7 活性が低下した。一方、Omd siRNA のトランスフェクションによる Omd のノックダウンを行ったところ、caspase3/7 活性が増加した。

本研究により、Omd の発現が骨芽細胞分化と関連があること、この Omd は骨芽細胞に対してアポトーシス誘導を抑制することおよび細胞増殖を促進するといった新たな機能を有することが明らかになった。

各審査担当者からの主な質問項目は、以下である。

- 1) Omd のヒドロキシアパタイトとの結合能と石灰化調節との関連について
- 2) 骨組織における骨芽細胞のアポトーシスの生理的意義と骨形成との関連について
- 3) Omd のノックアウトマウスの表現型について
- 4) 実験で用いたトランスフェクション法とその効率について
- 5) Omd 遺伝子プロモーターに存在する Smad1/4 応答領域について
- 6) Neuropeptide Y と骨芽細胞に関する過去の研究との関連性について
- 7) 実験で用いた MC3T3-E1 細胞と石灰化について
- 8) 骨基質中に存在する種々のプロテオグリカンについて

これらの質問に対して、申請者から明快な説明と回答が得られた。申請者は本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な知識を有しており、本研究のさらなる発展が期待された。本研究は、歯科医学の発展に寄与するものであり、審査担当者全員は申請者が博士(歯学)の学位を授与されるに相応しいと認めた。