

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
(自署)	研究方針指示と統括（久保田先生）
(自署)	研究助言と論文作成（上岡先生）
(自署)	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

教育研究分野 歯科矯正学分野	身分 大学院生	氏名 畚野 里紗
論 文 題 名 Yes関連タンパク質1を介したペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ による軟骨細胞死の制御		
論文内容の要旨（2000字程度） ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体γ(PPARγ)は、脂肪分化や代謝制御、細胞死や炎症など多様な細胞機能を調節する核内受容体である。軟骨組織では、PPARγが細胞外マトリックス産生を抑制し軟骨細胞分化を阻害するとの報告がある一方、PPARγ欠損マウスでは軟骨形成不全や変形性関節症(OA)の悪化がみられることから、その作用は一義的でなく、詳細な分子メカニズムは不明なままである。本研究は、PPARγの軟骨細胞における機能を明らかにすることを目的とした。 まず、ヒト間葉系幹細胞(MSC)のRNA-seq データおよびATDC5細胞の分化誘導系を用いて解析したところ、<i>Pparg</i>は分化初期と終末成熟期の二つの段階で発現が上昇することが明らかとなった。この二相性発現から、PPARγが双方で異なる役割を持つ可能性が考えられる。そこで本研究では、CRISPR/Cas9によって<i>Pparg</i>ノックアウト(ΔPPARγ)ATDC5細胞を樹立し機能解析を行った。ΔPPARγ ATDC5細胞では、PPARγは消失し、mRNAレベルも著しく低下していた。これらの細胞では増殖速度が低下し、CCK-8アッセイでも有意な細胞生存率の減少が認められた。一方、PPARγアゴニストGW1929添加により細胞生存率は上昇した。続いてPPARγの軟骨細胞分化初期段階での機能に焦点を当て、既報に基づきPPARγがフェロトーシス抑制作用を持つことに着目し、フェロトーシス指標である細胞内鉄イオン濃度を測定した結果、ΔPPARγ細胞では有意な鉄イオンの蓄積が認められ、GW1929はこれを減少させた。また、パイロトーシスの指標GSDMEは、ΔPPARγ ATDC5細胞でむしろ低下しており、PPARγ欠損による細胞死亢進はパイロトーシスではなくフェロトーシスに起因する可能性が示された。さらに、フェロトーシス抑制遺伝子<i>Fth1</i>やパイロトーシス促進遺伝子<i>Nlrc4</i>の発現を解析したところ、		

論文内容の要旨（2000字程度）

Δ PPAR γ ATDC5細胞ではこれらの発現が低下していた。これらの遺伝子は転写共役因子YAP1の標的であることが知られているため、YAP1の核移行を評価したところ、 Δ PPAR γ ATDC5細胞およびGW1929添加細胞の双方で核移行率が低下しており、PPAR γ 活性の変化とYAP1核移行との複雑な関係が示唆された。免疫蛍光解析ではPPAR γ が主に細胞質に局在し、YAP1と核周囲で部分的に共局在することが観察された。このことからPPAR γ はYAP1と直接複合体を形成してYAP1を核へ輸送するのではなく、細胞質においてYAP1の修飾や安定性を介して間接的に核移行を調節している可能性が考えられる。

以上より、PPAR γ は軟骨細胞分化の初期段階では細胞生存を支持する役割を持つことが明らかになった。この過程にはYAP1が関与し、PPAR γ は細胞質におけるYAP1制御を介して細胞死関連遺伝子発現を調節していると考えられる。

