

論文審査の結果の要旨

氏名：崔 眞

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Osteogenic transcription factors, proto-oncogene and insulin-like growth factor-II regulate bone sialoprotein gene transcription

（骨関連転写因子、ガン原遺伝子およびインスリン様成長因子 II は骨シアロタンパク質の転写を調節する）

審査委員：（主査）日本大学教授 博士（理学） 吉垣 純子

（副査）日本大学教授 歯学博士 松島 潔

（副査）日本大学教授 歯学博士 小方 頼昌

Runx2 homeodomain protein 2 (Runx2)、distalless 5 (Dlx5) および Smad1 は、骨芽細胞の分化と石灰化に関与する転写因子である。チロシンリン酸化活性を有する Src は、Src 遺伝子にコードされるガン原遺伝子であり、正常細胞中では c-Src と呼ばれている。骨シアロタンパク質 (BSP) は、初期の石灰化に関与するとともに、骨芽細胞の分化の初期マーカーでもある。本研究では、Runx2、Dlx5、Smad1 および c-Src 遺伝子を挿入した発現プラスミドをラット ROS17/2.8 骨芽細胞様細胞に導入し、これらの転写因子およびガン原遺伝子の BSP の遺伝子発現に対する影響を検討した。Runx2、Dlx5 および c-Src を ROS17/2.8 細胞で過剰発現させると、BSP と Runx2 の mRNA 量が増加した。しかし、Smad1 を ROS17/2.8 細胞で過剰発現させても、BSP と Runx2 の mRNA 量は増加しなかった。ラット BSP 遺伝子プロモーターを使用したルシフェラーゼアッセイにおいて、Runx2、Dlx5 または c-Src を ROS17/2.8 細胞で過剰発現させると、pLUC3 (-116~+60)、pLUC4 (-425~+60) および pLUC5 (-801~+60) コンストラクトの転写活性が上昇した。以上の結果から、Runx2、Dlx5 および c-Src は石灰化および骨形成に重要な転写因子であると考えられた。

インスリン様成長因子 I および II (IGF-I および IGF-II) は、多くの種の骨に存在し、IGF-II は骨に最も多く貯蔵されている成長因子である。本研究では、ROS17/2.8 細胞における BSP の転写に対する IGF-II の影響に関して検索を行った。IGF-II (50 ng/ml) は、刺激 6 時間後に BSP の mRNA およびタンパク量を増加させ、ラット BSP 遺伝子プロモーターを使用したルシフェラーゼアッセイで pLUC3 (-116~+60)、pLUC4 (-425~+60)、pLUC5 (-801~+60) および pLUC6 (-938~+60) コンストラクトの転写活性を上昇させた。IGF-II の効果は、チロシンキナーゼ、ERK1/2 およびフォスファチジルイノシトール 3 キナーゼ阻害薬で抑制され、ラット BSP 遺伝子プロモーター中のサイクリック AMP 応答配列 (CRE)、塩基性線維芽細胞成長因子 (FGF2) 応答配列 (FRE) およびホメオドメインタンパク質結合配列 (HOX) に 2 塩基対の変異を挿入すると抑制された。ゲルシフトアッセイの結果、CRE、FRE および HOX 配列に結合する核内タンパク質量は、IGF-II (50 ng/ml) 刺激後 3 および 6 時間後に増加した。CRE 結合タンパク質 1 (CREB1)、リン酸化 CREB1、c-Fos および c-Jun に対する抗体は、CRE 配列への核内タンパク質の結合を阻害した。Dlx5 と Runx2 抗体は、FRE と HOX 配列への核内タンパク質の結合を阻害した。以上の結果から、IGF-II は、ラット BSP 遺伝子プロモーター中の CRE、FRE および HOX 配列を介して BSP の転写を調節し、リン酸化 CREB1、c-Fos、c-Jun、Dlx5 および Runx2 は BSP の転写を調節する重要な転写因子であると考えられた。

IGF-II は、石灰化組織特異的に発現する BSP の転写を促進し、Runx2 および Dlx5 等の転写因子を介して骨形成を促進することから、その作用メカニズムの解明は、歯周組織再生の解明に役立つと考え

られ、歯周治療の発展に大きく寄与するものである。

よって本論文の著者は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 27 年 9 月 17 日