

論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	機能再建・再生科学領域 脊椎脊髄病態修復学教育研究分野 氏名 千葉 紀之
指導教授氏名	石橋恭之
論文審査担当者	主 査 水上浩哉 副 査 水沼英樹 副 査 大山力
<p>(論文題目) Decreased DNA methylation in the promoter region of the WNT5A and GDNF genes may promote the osteogenicity of mesenchymal stem cells from patients with ossified spinal ligaments (WNT5A と GDNF のプロモーター領域における DNA メチル化の減少によって脊柱靭帯骨化症患者由来の間葉系幹細胞の骨化が促進される)</p>	
<p>(論文審査の要旨)</p> <p>本研究では脊柱靭帯骨化症における黄色靭帯由来間葉系幹細胞 (MSCs) のエピジェネティック変化が骨細胞への分化に関与しているかどうか検討されている。実験は主に in vitro で行われている。手術時に摘出した胸椎黄色靭帯骨化症患者 (OYL) と非骨化症患者 (non-OYL) の黄色靭帯各 4 症例から MSCs をそれぞれ単離、培養した。その後、脱メチル化剤である 5-aza-2'-deoxycytidine (5AdC) で DNA の脱メチル化処理を行った。マイクロアレーを用いた網羅的解析により、以下の条件を同時に満たすものを脊柱靭帯骨化症において MSCs の脱メチル化に関与している骨化促進遺伝子として抽出した (1. non-OYL で脱メチル化処理により発現が亢進する、2. OYL で脱メチル化処理により発現が変化しない、3. 脱メチル化に関係なく OYL において non-OYL よりも遺伝子発現が高い)。メチル化 DNA 免疫沈降法により当該遺伝子のメチル化の程度を定量した。さらに、siRNA による当該遺伝子発現の抑制が MSCs の骨細胞分化にどのような影響を与えるかを検討した。</p> <p>実験結果を以下に記す。マイクロアレーによる網羅的解析により、3 つの条件を満たす遺伝子として 2 つの遺伝子 (WNT5A と GDNF) が抽出された。Real-time PCR によってもマイクロアレーの結果と同様であった。メチル化 DNA 免疫沈降法を用いた検討では、これら 2 つの遺伝子は OYL で non-OYL に比し高度にメチル化の低下が確認された。OYL 由来 MSC で WNT5A と GDNF の遺伝子発現を siRNA で抑制すると、骨化関連遺伝子発現および骨化マーカーのアルカリフォスファターゼ活性が有意に減少した。</p> <p>以上から、今回の研究により脊柱靭帯骨化症由来の MSCs で、WNT5A と GDNF の DNA 低メチル化が骨細胞への分化、靭帯の骨化に関与している可能性が初めて示された。</p> <p>本研究結果は脊柱靭帯骨化症に対して新しい知見を含み、学位授与に値する。</p>	
公表雑誌等名	Journal of Pharmacological Sciences, 2015. 4;127:467-73.