

評価を予測する事が可能になると期待される。

P-5.

筋分化抑制因子 Myostatin に対する E3 ユビキチンリガーゼ Arkadia の役割

(大学院単位取得・整形外科学)

○湯澤 久徳

(整形外科学)

山本 謙吾

(財団法人癌研究会癌研究所生化学)

鯉沼 代造、今村 健志

Myostatin は Transforming growth factor- β (TGF- β) スーパーファミリーに属するサイトカインで細胞の分化や増殖に対して抑制的な役割を持っている。Myostatin ノックアウトマウスや Myostatin に変異を持ったウシでは骨格筋の肥大、過形成を来たすことから、Myostatin は生理的に重要な筋分化抑制作用を有している。Myostatin シグナルの細胞内伝達機構については Smad pathway や p38 MAPK, Erk1/2 MAPK pathway を介した経路が報告されている。一方で抑制型 Smad である Smad7 が Myostatin により誘導されシグナルを調節するという報告がなされている。

我々は E3 ユビキチンリガーゼである Arkadia が Smad7 のユビキチン化、分解を介して TGF- β シグナルを増強することから、今回 Arkadia の Myostatin シグナルへの関与を想定しその機能を解析した。C2C12 筋芽細胞の Myostatin による筋分化抑制に対しアデノウイルスによる Arkadia 過剰発現の影響を筋特異的遺伝子発現および蛋白発現、免疫組織染色で比較すると、外因性 Arkadia によって筋分化抑制効果が増強された。また shRNA 発現レンチウイルスを用いた内因性 Arkadia のノックダウンによる効果は Myostatin の筋分化抑制効果を減弱させた。さらに Arkadia の Myostatin シグナルへの作用メカニズムを解析するため、Myostatin による Smad のリン酸化および Smad7 のユビキチン化を比較した。その結果、内因性 Arkadia のノックダウンによってリン酸化、ユビキチン化ともに減弱した。以上より Arkadia は Smad7 のユビキチン化を介して Myostatin の下流で Smad pathway を増強し、筋分化抑制もたらすことが示唆された。

P-6.

ラット骨髄由来間葉系幹細胞および骨芽細胞様株 (MC3T3-E1) を用いたヒアルロン酸産生についての検討

(大学院三年・整形外科学)

○小島 理

(整形外科学)

正岡 利紀、岩崎 剛、山本 謙吾

(八王子・整形外科)

朝日 盛也

【目的】 ラット骨髄由来間葉系幹細胞および骨芽細胞様株 (MC3T3-E1) に対し、低出力超音波 (LIPUS) の照射および FGF-2 を作用させ、ヒアルロン酸産生 (HA) に及ぼす影響を検討することを目的とした。

【方法】 ラット骨髄由来間葉系幹細胞を 1×10^4 cells/well にて播種した。非刺激群を (C) 群、FGF-2 添加群を (F) 群 (添加濃度を 2, 10, 50 ng/mL とし、それぞれ (F-2), (F-10), (F-50) 群) とした。LIPUS 照射群を (L) 群、FGF-2 添加+LIPUS 照射群を (FL) 群とし、FGF-2 の濃度別にそれぞれ (FL-2), (FL-10), (FL-50) 群とした。一方、骨芽細胞様株 (MC3T3-E1) を 2.5×10^5 cells/10 cm dish にて播種。非刺激群を (MC) 群、FGF-2 添加群を (MF) 群 (添加濃度を 2, 10, 50 ng/mL とし、それぞれ (MF-2), (MF-10), (MF-50) 群) とした。LIPUS 照射群を (ML) 群、FGF-2 添加+LIPUS 照射群を (MFL) 群とし、FGF-2 の濃度別にそれぞれ (MFL-2), (MFL-10), (MFL-50) 群とした。4 日目に HA の定量を行い、各群間の比較検討を行った。

【結果】 HA 量 (treatment/control) は F-2 群では 1.54 倍、F-10 群では 1.58 倍、F-50 群では 1.69 倍、L 群では 1.17 倍、FL-2 群では 1.55 倍、FL-10 群では 1.89 倍、FL-50 群では 2.09 倍と増加を示し、F-10、F-50 群および FL-10、FL-50 群で有意差を認めた。F 群—FL 群間には有意差を認めなかった。一方、MF、ML、MFL 群においては各群とも有意な HA 量の変化を認めなかった。

【考察】 骨形成に対して、より未分化な細胞段階においてヒアルロン酸が関与することが示唆された。