

論文の内容の要旨

論文題目 骨細胞由来の長鎖ノンコーディング RNA が骨芽細胞の分化過程で果たす役割の解明

氏名 荒井 誠

2000年代初頭のヒトゲノム計画でゲノムの大部分は蛋白質をコードしていないということが驚きをもって報じられて以降、蛋白質をコードしないノンコーディング RNA が注目されてきた。ノンコーディング RNA にはマイクロ RNA などの小分子 RNA も含まれる一方で、数百～数千塩基からなる長鎖ノンコーディング RNA も、その多様な作用機構を有する故、様々な生命現象への関与が近年続々と明らかになってきている。

こうした生命現象は全身のどの臓器にもあてはまり得るが、その中で骨組織は従来は単なる支持的な組織と思われ、注目を浴びていなかった。しかし今や、骨組織は絶えずリモデリングを続け、また他臓器との相互作用も有する動的な臓器であると認識されている。こうした骨リモデリングの両輪は破骨細胞による骨吸収と骨芽細胞による骨形成であるが、最近では骨組織の大多数を占める骨細胞もただ骨基質中に埋もれた細胞であるだけではなく、周囲の細胞とのコミュニケーションを介して多面的な作用を果たすことが認知されてきている。

このように骨組織の中でも大多数を占め、多様な機能を有する骨細胞の重要性が増しているにも関わらず、骨細胞の研究はまだ十分に進んでいるとは言い難い。長鎖ノンコーディング RNA に関しても、そもそも骨組織の長鎖ノンコーディング RNA の報告も骨芽細胞などに関する数報に留まっており、骨細胞の長鎖ノンコーディング RNA に関しては未だ報告がない。しかし、長鎖ノンコーディング RNA は、発生・分化などの生理機能のみならず、癌などの病態にも深く関わっていることが近年次々と明らかになっ

てきていることから、現時点ではその報告がない骨細胞の長鎖ノンコーディング RNA も、骨細胞の生理機能および病態に関与することが予想され、それを通じて骨代謝の研究が進展することが期待される。そこで私は、骨細胞における長鎖ノンコーディング RNA の意義を明らかにすることを目的に本研究を行った。

まず私は骨細胞に特徴的な長鎖ノンコーディング RNA を抽出するために、骨細胞が EGFP 標識された *Dmp1-Cre; EGFP* マウスの大腿骨から、フローサイトメトリーを用いて EGFP 陽性および陰性細胞を分取し、RNA シークエンスに供することで骨細胞に特徴的な長鎖ノンコーディング RNA を複数同定した。続いてこれらの長鎖ノンコーディング RNA をマウスの骨細胞の細胞株である IDG-SW3 細胞に遺伝子導入し、骨芽細胞から骨細胞への分化に及ぼす影響を比較した。その中で、分化を強力に抑制する全く新規の長鎖ノンコーディング RNA 9530026P05Rik に注目した。

9530026P05Rik を恒常的に発現する IDG-SW3 細胞株では、骨形成に重要な転写因子である *Osterix* 遺伝子およびそれ以降の骨形成マーカー遺伝子の発現が低下していた。このことは 9530026P05Rik のノックダウン実験でも裏付けられた。

そこで、9530026P05Rik がどのようにして *Osterix* の発現低下につながるかを検討する中で、私は骨芽細胞から骨細胞への分化に重要で、かつ *Osterix* の発現調節にも関与する Wnt/ β カテニン経路に着目し、9530026P05Rik 恒常発現株では同経路が抑制されていることを突き止めた。FISH によって 9530026P05Rik は核内に局在することが示され、また、RNA プルダウンによって 9530026P05Rik は核内蛋白質である CCAR2 と結合することが明らかになった。

骨組織での CCAR2 の機能解析を進めると、CCAR2 は Wnt/ β カテニン経路を亢進させることで骨芽細胞から骨細胞への分化を促進することが示唆された。

更に私は、この CCAR2 の作用に 9530026P05Rik がどのように関与しているかをよ

り詳細に検討した。免疫沈降およびクロマチン免疫沈降の結果から、CCAR2はヒストン脱アセチル化酵素であるHDAC1と結合してその機能を阻害することが示唆され、また、9530026P05RikはこのCCAR2の作用を抑制することで結果的に*Osterix*遺伝子のプロモーター上でH3K27のアセチル化レベルが低下し、*Osterix*遺伝子の転写が低下していると推測された。

本研究は、近年重要性が増しているにも関わらず長鎖ノンコーディングRNAの報告がなかった骨細胞に着目し、骨細胞における長鎖ノンコーディングRNAの意義を初めて明らかにした報告である。9530026P05Rikのノックダウンにより骨芽細胞から骨細胞への分化が促進されたことから、今後骨細胞の長鎖ノンコーディングRNAが、骨粗鬆症をはじめとした高齢化とともに増加の一途にある骨代謝疾患の新たな治療標的になる可能性もあり、今後の一層の研究が待たれる。