

審査の結果の要旨

氏名 森 芳史

本研究は先行研究で *in vitro* で肥大分化・石灰化を抑制すると示されていた *S100A1*・*S100B* の骨格系組織の発生及び関節軟骨の維持に対する機能に関して *in vivo* および *in vitro* の両面での解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. *S100a1* や *S100b* のノックアウトマウスの骨格系の発生を解析したが、明らかな異常がなかった。
2. *S100a1* や *S100b* のノックアウトマウスの軟骨組織の RNA を採取して遺伝子発現解析を行ったが、他のサブタイプの *S100* ファミリー遺伝子の代償性の発現上昇は見られなかった。
3. *In vitro* で、*S100A1*、*S100B* 以外の *S100* タンパクにも石灰化抑制作用を持つものがある事が示された。*S100a1* や *S100b* のノックアウトマウスで肥大分化・石灰化に影響が無いのは、これらの他の *S100* ファミリータンパクが代償的に働いているためである可能性があるとして示された。
4. マウス変形性膝関節症モデルを用い、野生型と *S100a1* ノックアウト、野生型と *S100b* ノックアウト、及び *S100a* ノックアウトと *S100a1*・*S100b* ダブルノックアウトの3組について、変形性関節症進行の程度を術後12週で比較した。その結果、*S100a1* ノックアウトマウスでは、野生型に比して有意に変形性関節症が進行していたが、*S100b* ノックアウトマウスや *S100a1*・*S100b* ダブルノックアウトマウスでは、それぞれの対照群に比して変形性関節症の進行度に有意な差はなかった。このことから、*S100A1* と *S100B* のうち、*S100A1* のみに変形性関節症病態に保護的に作用している可能性があると考えられた。
5. 組織免疫染色による解析により、*S100A1* タンパクの発現は軟骨変性の進行度と負の相関を持っていると判明した。*SOX9* タンパクは軟骨変性初期に一時的に発現亢進し、軟骨変性の進行と共に発現が低下していた。従って、*S100A1* と *SOX9* は特に軟骨変性の初期に相互作用している可能性があるとして唆された。
6. マウス関節軟骨細胞に対して siRNA による *S100a1* の発現抑制、アデノウイルスによる *S100A1*

の過剰発現、及びリコンビナントタンパクによる細胞外からの S100A1 の投与を行い、RNA 及びタンパクの発現を解析した。その結果、S100A1 は、細胞内作用として *Sox9* とその下流の *Col2a1*、*Aggrecan* の発現を促進し、細胞外作用として *Sox9*、*Col2a1*、*Aggrecan*、及び *Prg4* の発現を抑制すると考えられた。

以上、本論文は S100A1 及び S100B が骨格系組織の発生にとって必ずしも必要ではない事、及び S100A1 がその細胞内作用による pro-anabolic な遺伝子の発現上昇を介して、軟骨変性病態に対して保護的に作用する可能性がある事を示した。本研究はこれまで軟骨変性を悪化させる作用のみが知られていた S100 タンパクに関節軟骨保護作用を持つものがある可能性を示した点で、S100 タンパクの軟骨組織での機能の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。