

氏名	前田 彩
学位	博士
専門分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第4932号
学位授与の日付	平成26年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則(文部省令)第4条第1項該当)
学位論文題目	CCN2 as a novel molecule supporting energy metabolism of chondrocytes (軟骨細胞においてエネルギー代謝を支える特異的な分子としてのCCN2)
学位論文審査委員	長塚 仁 教授 池亀 美華 准教授 滝川 正春 教授

学位論文内容の要旨

CCN2/connective tissue factor (CTGF) is a unique molecule that promotes both chondrocytic differentiation and proliferation through its matricellular interaction with a number of extracellular biomolecules. This apparently contradictory functional property of CCN2 suggests its certain role in basic cellular activities such as energy metabolism, which is required for both proliferation and differentiation. Comparative metabolomic analysis of costal chondrocytes isolated from wild-type and *Ccn2*-null mice revealed overall impaired metabolism in the latter. Among the numerous metabolites analyzed, stable reduction in the intracellular level of ATP, GTP, CTP or UTP was observed, indicating a profound role of CCN2 in energy metabolism. Particularly, the cellular level of ATP was decreased by more than 50 % in the *Ccn2*-null chondrocytes. The addition of recombinant CCN2 (rCCN2) to cultured *Ccn2*-null chondrocytes partly redeemed the cellular ATP level attenuated by *Ccn2* deletion. Next, in order to investigate the mechanistic background that mediates the reduction in ATP level in these *Ccn2*-null chondrocytes, we performed transcriptome analysis. As a result, several metabolism-associated genes were found to have been up-regulated or down-regulated in the mutant mice. Up-regulation of a number of ribosomal protein genes was observed upon *Ccn2* deletion, whereas a few genes required for aerobic and anaerobic ATP production were down-regulated in the *Ccn2*-null chondrocytes. Among such genes, reduction in the expression of the enolase 1 gene was of particular note. These findings uncover a novel functional role of CCN2 as a metabolic supporter in the growth-plate chondrocytes, which is required for skeletogenesis in mammals.

学位論文審査結果の要旨

CCN2/結合組織成長因子 (CTGF) は、多くの細胞外分子との相互作用を通じて、軟骨の分化と増殖をどちらも促進する特異な分子である。分化と増殖のどちらも促進するという矛盾した機能的特質から、CCN2 はエネルギー代謝という基礎的な細胞活動において重要な役割を担っていることが示唆される。そこで本研究は、CCN2 の基本代謝全般における役割を解明することを目的として解析をすすめた。

野生型マウスと CCN2 欠損マウスから分離した肋軟骨細胞のメタボローム分析では、後者で全体的に代謝が障害されていることが明らかとなった。メタボローム解析の中でも、安定して細胞内 ATP、GTP、CTP、UTP の細胞内レベルが低下していることが観察された。また、細胞内 ATP レベルは野生型と比較して CCN2 欠損軟骨細胞において 50%以上も低下していた。さらに、培養した CCN2 欠損軟骨細胞にリコンビナント CCN2 を添加すると、CCN2 欠損によって低下した細胞内 ATP レベルが部分的に回復することが確認できた。次に、これら CCN2 欠損軟骨細胞における ATP レベルの低下をもたらす背景を調べるために、DNA マイクロアレイによって mRNA の網羅的解析をおこなった。その結果、CCN2 欠損軟骨細胞において、多くのリボソームタンパクの遺伝子が発現上昇し、一方で、好氣的 ATP 産生に必要な遺伝子である ATP 合成酵素 γ サブユニット遺伝子や嫌氣的 ATP 産生に必要な遺伝子である enolase1 遺伝子が発現抑制されていることが観察された。さらに、定量的リアルタイム PCR 法により、後者 enolase1 遺伝子の発現が有意に低下していた。これより、CCN2 は主に enolase1 を標的とした嫌氣性の経路を通じて ATP 産生を制御していることが示唆された。

以上のことから、哺乳類における骨形成過程に必要である成長板軟骨において代謝を支持するという CCN2 の特異的機能的役割が明らかとなった。

本論文は CCN2 が成長板軟骨細胞において ATP 産生を制御し代謝を支持しているという新しい知見を示したものであり、これらの知見は骨や軟骨の代謝機構について明らかにするだけでなく、ATP の低下が原因となりうる変形性関節症など骨・軟骨疾患についての疾病の究明や、治療法開発の糸口になると考えられる。よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。