

論 文 内 容 要 旨

Fibroblast growth factor 10 and its receptors,
FGFR2-IIIbs, are involved in skeletal development

(線維芽細胞増殖因子 10 による骨・軟骨形成制御と
骨・軟骨由来可溶性 FGFR2-IIIb の同定)

主指導教員：津賀 一弘 教授

(応用生命科学部門先端歯科補綴学)

副指導教員：天野 秀昭 教授

(統合健康科学部門口腔発達機能学)

副指導教員：安部倉 仁 講師

(応用生命科学部門先端歯科補綴学)

香川 和子

(医歯薬保健学研究科 博士課程医歯薬学専攻)

論文内容要旨

論文題目

Fibroblast growth factor 10 and its receptors, FGFR2-IIIbs, are involved in skeletal development

(線維芽細胞増殖因子 10 による骨・軟骨形成制御と骨・軟骨由来可溶性 FGFR2-IIIb の同定)

学位申請者 香川 和子

線維芽細胞増殖因子 (FGF) ファミリーは 22 種類の分子から構成され、その大部分はチロシンキナーゼ型受容体を介して細胞内にシグナルを伝達する。FGF の作用は、受容体ファミリー (FGFR1-4) との組み合わせにより、発生、血管新生、創傷治癒、リン代謝、糖代謝など多岐にわたる。FGF は骨・軟骨形成との関わりも強く、FGFR の変異は様々な骨関連疾患に関与する。FGFR2 には多くの変異が報告されており、2つのアイソフォーム (FGFR2-IIIb, FGFR2-IIIc) に共通した細胞外ドメインの機能獲得型変異は、頭蓋骨癒合症や軟骨形成不全症の原因となる。FGFR2-IIIb の主要なリガンドである FGF10 のノックアウトマウスでは、肺、唾液腺、皮膚などの上皮に加え、口蓋、肢芽などにおいても形態形成異常が認められる。一般に、FGF10 は間葉系細胞から分泌され、上皮細胞を標的とすることから、FGF10 の骨格系への影響は発生初期の上皮を介した間接作用と見て取れる。一方、FGF10 は間葉系細胞自身にも作用し、脂肪分化や初期の軟骨形成を調節することも報告されている。そこで、本研究では、間葉系細胞が骨・軟骨へコミットした後に FGF10 を過剰発現する遺伝子改変マウスを用い、FGF10 が骨格形成に直接作用する可能性を検討した。さらに、骨・軟骨における FGFR2 の存在様式とマウス軟骨前駆細胞株 ATDC5 における FGFR2 の性状を検討した。

軟骨・骨原基形成後の胎仔(胎生 12.5 日から 18.5 日あるいは 19.5 日)に FGF10 を過剰発現させるため、妊娠母体に適宜ドキシサイクリン (Dox) を自由飲水投与し、Dox 依存性に FGF10 過剰発現する (TG) マウスおよび同腹のコントロールマウスを得た。TG マウスは出生直後に死亡したが、外観上体躯が小さく、頭部は吻尾方向に短い傾向を示した。出生直後もしくは出生前のマウスについて、ホールマウント骨・軟骨染色あるいはマイクロ CT 解析を行ったところ、吻の短縮、下顎骨の劣形成、下顎頭軟骨の矮小化、口蓋裂、鼓室輪の形成不全、頭蓋底の長

さ、頭蓋冠の幅および四肢長管長軸長の減少、口蓋幅の拡大など、全身の骨格系に形態異常を認めた。脛骨、大腿骨、下顎骨の脱灰パラフィン切片を作製し、H-E、アルカリホスファターゼ、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ、X型コラーゲン染色を行った。これらの染色結果から、TG マウスでは肥大軟骨細胞層が減少し、骨芽細胞数と破骨細胞数の減少も認められた。一方、頭蓋底、鼻中隔、鼻甲介周囲においては、軟骨の肥大化が認められた。これらの結果から、FGF10 の過剰発現は骨・軟骨形成に対し概ね抑制的に作用するものの、少なくとも軟骨の一部に対しては異なる影響を示すことが明らかとなった。

そこで、正常マウスの様々な骨格系組織について *Fgfr2* の遺伝子発現を確認したところ、新しいスプライスバリエントを見出した。このバリエントの発現は、概ね TG マウスで低形成を認めた骨・軟骨と一致し、肥大化を呈する鼻中隔軟骨などには発現していなかった。このバリエントから予想される翻訳産物は、細胞膜貫通ドメインと細胞内チロシンキナーゼドメインを欠如した可溶性 FGFR2-IIIb (sFGFR2-IIIb) であった。このバリエントは ATDC5 細胞にも発現していたことから、同細胞の培養上清を確認したところ、sFGFR2-IIIb が検出された。また、同細胞に sFGFR2-IIIb を過剰発現させると、培養上清の sFGFR2-IIIb の量に依存して細胞増殖が促進された。これらの結果から、sFGFR2-IIIb は少なくとも一部の骨格系細胞で発現し、*in vitro* において細胞応答を調節することが明らかとなった。

以上より、FGF10 の過剰発現は骨・軟骨の形成障害をもたらすこと、その影響は FGFR2-IIIb およびその可溶性である sFGFR2-IIIb の発現プロファイルによって異なること、sFGFR2-IIIb は機能分子として FGF シグナルを調節することが推察された。sFGFR2-IIIb の詳細な機能についてはさらなる検討を要するが、本研究の成果は FGF による骨格形成機構の分子基盤に新しい概念を提供するものであり、FGFR2 の関連する疾患等における臨床的意義が期待される。