

論文内容要旨

OASIS modulates hypoxia pathway activity to
regulate bone angiogenesis

(小胞体ストレスセンサーOASISはHIF1 α と協調
して骨組織の血管新生に関与する)

Scientific Reports,5,2015.

主指導教員：今泉 和則 教授
(基礎生命科学部門 分子細胞情報学)

副指導教員：浅野 知一郎教授
(基礎生命科学部門 医化学)

副指導教員：酒井 規雄教授
(基礎生命科学部門 神経薬理学)

崔 旻

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

新しく合成された膜タンパク質や分泌タンパク質は小胞体の中で折り畳まれて高次構造を形成する。細胞が虚血、酸化ストレス、感染などの様々な異常環境に曝されると、小胞体の働きに破綻が生じ、不完全なタンパク質が小胞体に大量に生み出される。この状態を小胞体ストレスと呼ぶ。細胞はこの様な異常事態を感知する小胞体ストレスセンサータンパク質を有しており、異常タンパク質の修復や分解を行うシステムを積極的に駆動させて細胞傷害から身を守る。この応答機構は小胞体ストレス応答と呼ばれ、酵母から哺乳細胞まで広く保存されているシステムである。Old astrocyte specifically induced substance (OASIS)は小胞体膜貫通型転写因子の構造を持つ小胞体ストレスセンサーの一つである。OASIS は小胞体ストレスを感知すると、小胞体からゴルジ体へと移行し、そこでプロテアーゼの作用により膜内切断を受ける。切断されたアミノ末端側断片 (N 末) は核へと移行し転写因子として働く。当研究室の先行研究によって OASIS は骨芽細胞に強く発現し、Bone morphogenetic protein 2 (BMP2) と骨分化のマスター転写因子 RUNX2 の下流で発現し、I 型コラーゲンの転写を誘導することが明らかにされている。OASIS 欠損マウスでは骨芽細胞の分化異常により、骨形成不全を呈することから、OASIS は骨形成に必須の遺伝子であることがわかってきた。最近、興味深いことに OASIS 欠損骨芽細胞では hypoxia-inducible factor 1 α (HIF1 α)のターゲット遺伝子の多くが発現低下していることを見出した。今回 OASIS による HIF1 α ターゲットの転写制御機構と骨形成における OASIS-HIF1 α ターゲット系の働きについて解析を行った。

マウスから単離した骨芽細胞におけるジーンチップデータを詳細に解析した結果、HIF1 α のターゲット遺伝子 45 種のうち、30 種の遺伝子の発現レベルが低下していることがわかった。実際に RT-PCR および Real time PCR で遺伝子発現を検討した結果、OASIS 欠損骨芽細胞で HIF1 α のターゲット遺伝子の発現が低下していることが確認できた。ウエスタンブロッティングにより HIF1 α の発現量を調べたところ、OASIS 欠損細胞と野生型の間で HIF1 α の発現量に差は認められなかった。すなわち、HIF1 α の発現制御は OASIS に依存していないことを意味し、OASIS が HIF1 α へ作用することで HIF1 α ターゲット遺伝子の転写調節に関与しているものと考えられた。次に低酸素下における OASIS の活性化と細胞内局在を調べた。OASIS は低酸素下で膜内切断を受けて活性化し、活性化した OASIS N 末が核に蓄積していた。OASIS N 末の免疫沈降を行うと HIF1 α が共沈してきたことから、両者は核内で結合することが明らかになった。HIF1 α は低酸素応答エレメント (HRE)を介して標的遺伝子の転写を制御する。HRE 配列を用いたレポーターアッセイでは、OASIS が HIF1 α に対して相加的に作用し、HRE レポーターの転写を促進することがわかった。

軟骨内骨化による骨形成は低酸素状況下であり、軟骨細胞や骨芽細胞は HIF1 α 経路を介して、血管内皮増殖因子 VEGF を分泌することで血管形成を促進し、それぞれの分化に必要な栄養を獲得する。大腿骨成長板の詳細な組織学的解析の結果、OASIS 欠損マウスでは血管新生が抑制されていることが明らかとなった。また、野生型に比べて OASIS 欠損マウスでは成長板と骨内膜で VEGF の発現が著しく低下していた。さらに、野生型マウスおよび OASIS 欠損マウス胎仔から中足骨を摘出し、metatarsal angiogenesis assay を行ったところ、骨から伸び出す血管

の長さが OASIS 欠損によって短縮しており、血管形成が抑制されていることも分かった。以上より OASIS 欠損マウスでは HIF1 α のターゲットの一つである VEGF の発現低下によって骨形成時の血管新生が低下することが明らかになった。

本研究から OASIS は、HIF1 α と協調し VEGF などの HIF1 α ターゲットを誘導し、骨形成時の血管新生を促進する働きがあることを新たに見出した。OASIS は骨芽細胞以外に中枢神経系の反応性アストロサイトや、様々な癌細胞において発現している。今後は OASIS を介した血管新生と神経系の傷害や癌形成との関与についても明らかにしていく必要がある。