

氏名	石川 崇典
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第5703号
学位授与の日付	平成30年3月23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 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Physiological role of urothelial cancer-associated 1 long noncoding RNA in human skeletogenic cell differentiation (ヒト骨格形成細胞分化における urothelial cancer-associated 1 長鎖ノンコーディング RNA の生理的役割)
論文審査委員	岡村 裕彦 教授 窪木 拓男 教授 岡田 正弘 准教授

学位論文内容の要旨

A vast number of long-noncoding RNAs (lncRNA) are found expressed in human cells, which RNAs have been developed along with human evolution. However, the physiological functions of these lncRNAs remain mostly unknown. In the present study, we for the first time uncovered the fact that one of such lncRNAs plays a significant role in the differentiation of chondrocytes and, possibly, of osteoblasts differentiated from mesenchymal stem cells, which cells eventually construct the human skeleton. The urothelial cancer-associated 1 (UCA1) lncRNA is known to be associated with several human malignancies. Firstly, we confirmed that UCA1 was expressed in normal human chondrocytes, as well as in a human chondrocytic cell line; whereas it was not detected in human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMSCs). Of note, although UCA1 expression was undetectable in hBMSCs, it was markedly induced along with the differentiation towards chondrocytes, suggesting its critical role in chondrogenesis. Consistent with this finding, silencing of the UCA1 gene significantly repressed the expression of chondrogenic genes in human chondrocytic cells. UCA1 gene silencing also had a significant impact on the osteoblastic phenotype in a human cell line. Finally, forced expression of UCA1 in a murine chondrocyte precursor, which did not possess a UCA1 gene, overdrove its differentiation into chondrocytes. These results indicate a physiological and important role of this lncRNA in the skeletal development of humans, who require more sustained endochondral ossification and osteogenesis than do smaller vertebrates.

論文審査結果の要旨

ヒトゲノムからは多種多様な長鎖ノンコーディングRNA (lncRNA) が転写されており、これらlncRNAの数はヒトへの進化過程で増加してきたことが知られている。これまでの研究で、一部のlncRNAは遺伝子発現の調節やクロマチンの再編成等様々な機能を持つことが報告されているが、その他大部分のlncRNAの生理的役割はほとんど知られていない。本研究では、軟骨細胞や骨芽細胞等の骨格形成細胞の代謝に関わるlncRNAを探索し、候補となったlncRNA分子を解析・機能評価することにより、その役割の解明を目指した。

公開されているトランスクリプトーム解析データより、ヒト関節軟骨細胞での発現が示唆されていた **urothelial cancer-associated 1 (UCA1)** を研究対象として選んだ。UCA1はヒト悪性腫瘍と関連していることが知られているlncRNAであるが、その生理的役割は明らかにされていない。当該lncRNAの塩基配列に基づいた *in silico* 解析では、UCA1に相当する分子は霊長目ヒト科属する動物に限定的にみられ、その他の哺乳類には存在しなかった。UCA1の遺伝子発現量を各種ヒト細胞株で比較したところ、やはり軟骨細胞様HCS-2/8細胞で強い発現がみられ、ヒト正常軟骨細胞でもその発現は確認された。UCA1はヒト骨髄幹細胞 (hBMSC) ではほとんど発現しておらず、hBMSCを軟骨細胞に分化させていく過程でUCA1の発現がまず上昇し、その後軟骨細胞マーカー遺伝子発現の上昇がみられた。HCS-2/8細胞においてUCA1をサイレンシングした結果、軟骨細胞マーカーの発現に著しい低下がみられた。また骨芽細胞様SaOS2においてUCA1をサイレンシングおよび過剰発現した結果、ともに骨芽細胞マーカー遺伝子発現の低下を認め、過剰発現では細胞老化現象も観察された。この所見は細胞老化に伴ってUCA1発現が上昇する事実と符合する。また、UCA1を持たないマウス軟骨前駆細胞様ATDC5に対してUCA1を導入すると、軟骨細胞マーカー遺伝子の発現が上昇した。

以上の実験事実から、当該lncRNAはヒトにおける軟骨細胞の分化や形質維持を通じて内軟骨性骨化において重要な役割を演ずるだけでなく、骨芽細胞による骨形成にも影響を与えていると考えられる。また、小型の脊椎動物に比べてより持続的な軟骨内骨形成を必要とするヒトの骨格発達における、ヒト科特異的UCA1の積極的関与も推察される。

本論文は、軟骨細胞や骨芽細胞におけるUCA1の生理学的役割という新しい知見を示したものである。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。