

論 文 要 旨

区 分	甲	乙	氏名	竹崎 公章 ㊞
-----	---	---	----	---------

高密度間葉細胞培養におけるGDF-5の細胞遊走に与える影響

研究目的

Growth Differentiation Factor -5 (GDF-5) はBone morphogenetic Protein (BMP) ファミリーの一つであるが、間葉細胞凝集におけるGDF-5の役割は未だ不明である。本研究は、未分化間葉細胞高密度培養（マイクロマスカルチャー, MMC）を用いて、GDF-5 およびそのシグナル伝達経路の細胞遊走に与える影響を検討した。

材料および方法

GDF-5添加、または無添加マウス肢芽由来間葉細胞のMMCをおこない、アルシアンブルー (AB)染色を用いて軟骨結節領域の評価を行った。また未分化細胞株C3H10T1/2、前軟骨細胞株ATDC5のそれぞれの細胞株のMMCにおいて、スクラッチアッセイを行い、無細胞領域の測定により細胞の遊走能を評価した。さらに、C3H10T1/2のMMCにおいてGDF-5の細胞遊走に関与するシグナル伝達経路を検討するために、BMP受容体阻害剤またはp38MAPキナーゼ阻害剤を添加し、無細胞領域を測定した。また細胞遊走に関与する遺伝子発現に与える影響をリアルタイムPCR法にて検討した。

結果

GDF-5添加によりマウス肢芽由来間葉細胞のMMCにおいてAB染色強度は増加した。一方、AB染色陽性の軟骨結節が認められる領域は小さくなった。スクラッチアッセイにおいてGDF-5添加によりマウス肢芽由来間葉細胞およびC3H10T1/2の無細胞領域は減少したが、ATDC5では認められなかった。GDF-5により減少したC3H10T1/2の無細胞領域はBMP受容体阻害剤、またはp38MAPキナーゼ阻害剤添加により対照群と比較して差が認められなくなった。また遺伝子発現ではGDF-5添加によりSox11の発現は増加したが、N-カドヘリンおよびMzf-1遺伝子の発現は抑制された。

考察

マウス肢芽間葉細胞のMMCにおいて、AB染色陽性の軟骨結節形成領域が減少した結果は、GDF-5は間葉系細胞集合を促進する可能性を示唆している。またC3H10T1/2とATDC5の無細胞領域の異なる結果は、GDF-5は分化段階が進んだ細胞の細胞遊走を促進しないことを示した。BMP受容体阻害剤またはp38MAPキナーゼ阻害剤添加により、無細胞領域の変化が認められたことは、GDF-5はBMP受容体およびp38MAPK経路を介して細胞遊走を促進していることを示した。さらにSox11、Mzf-1、およびN-カドヘリン遺伝子発現が細胞遊走に関与している可能性を示唆している。

結論

GDF-5のMMCにおける細胞遊走は分化段階が異なる細胞に対して異なる作用を与える可能性を示し、未分化間葉細胞の細胞遊走促進はBMP受容体/p38MAPK シグナル伝達経路を介し、Sox11およびN-カドヘリンが関与する可能性が示唆された。