

論文要旨

氏名	井上 愛沙子
タイトル (日英併記)	VNUT / SLC17A9, a vesicular nucleotide transporter, regulates osteoblast differentiation (小胞型ヌクレオチドトランスポーターである VNUT / SLC17A9 は骨芽細胞の分化を調節する)
<p>論文の要旨 (日本語で記載)</p> <p>機械的負荷は、骨代謝の制御因子の一つである。例えば、宇宙のような微小重力環境や寝たきりなどの不適切な機械的負荷下では骨量が減少する。また、矯正歯科治療では、歯を介した歯周組織への機械的負荷によって歯の移動を行う。骨芽細胞は機械的負荷により細胞外へ ATP を放出し、P2 receptor (P2Y2 receptor、P2X7 receptor) を介して骨代謝に影響を及ぼすことが知られている。しかし、骨芽細胞における ATP 放出機構は未だ不明な点が多い。近年、ATP の小胞保存を行う vesicular nucleotide transporter (VNUT/SLC17A9) が同定された。VNUT の発現は、様々な細胞で確認されているが、骨芽細胞における発現は未だ報告がない。本研究は、骨芽細胞の骨代謝機構における VNUT の役割の解明を目的とした。</p> <p>C57BL/6J マウスにおける VNUT の発現を realtime PCR、免疫組織染色にて調べた。次に、前骨芽細胞株である MC3T3-E1 細胞に遠心力による圧迫力の付与 (9.0 g/cm²、12 時間) を行い、<i>Slc17a9</i>、<i>P2x7 receptor</i>、<i>P2y2 receptor</i> の発現を realtime PCR にて調べ、細胞外 ATP 量をルシフェリルシフェラーゼ法にて調べた。圧迫力付与7日後に、骨芽細胞分化マーカー (<i>Osterix</i>、<i>Runx2</i>、<i>Collagen 1a1</i>、<i>Alkaline phosphatase</i>) の発現を realtime PCR にて調べ、ALP 活性を調べた。また、shRNA による <i>Slc17a9</i> のノックダウンを行い、圧迫力付与後の細胞外 ATP 量や骨芽細胞分化マーカーの発現、ALP 活性を調べた。さらに、siRNA による <i>P2 receptor</i> ノックダウンを行い、骨芽細胞分化マーカーの発現を調べた。</p> <p>骨および骨芽細胞に VNUT が発現していた。MC3T3-E1 細胞において、圧迫力の付与により <i>Slc17a9</i>、<i>P2y2 receptor</i>、<i>P2x7 receptor</i> の発現および細胞外 ATP 量は増加した。また、骨芽細胞分化マーカー発現および ALP 活性は減少し、圧迫力付与により骨芽細胞の分化は抑制された。<i>Slc17a9</i> をノックダウンした骨芽細胞において、圧迫力付与後の細胞外 ATP 量は減少し、骨芽細胞分化マーカーおよび ALP 活性は増加し、圧迫力付与による骨芽細胞分化抑制が解除された。さらに、<i>P2y2 receptor</i> のノックダウンではなく <i>P2x7 receptor</i> のノックダウンによって、圧迫力付与後の骨分化マーカーの発現の増加が認められ、圧迫力付与による骨芽細胞分化抑制が解除された。</p> <p>以上より、機械的負荷により誘導される VNUT が、細胞外 ATP-P2X7 receptor 経路を介して骨芽細胞の分化を調節することが示唆された。従って機械的負荷下における骨芽細胞の骨代謝に、VNUT を介した ATP 放出が重要な役割を果たす可能性が示された。</p>	