

# 論文要旨

## Human Immunodeficiency Virus Type1 Enhancer-binding Protein 3 Is Essential for the Expression of Asparagine-linked Glycosylation 2 in the Regulation of Osteoblast and Chondrocyte Differentiation

今村 勝行

Human Immunodeficiency Virus Type1 Enhancer-binding Protein 3 (*Hivep3*) は骨芽細胞分化マスター因子 Runx2 を分解誘導 (ユビキチン化) し骨形成を抑制する事が明らかとなっている。本研究では *Hivep1, 2, 3* が協調して骨軟骨細胞分化に関与する可能性について検討した。骨髄ストローマ細胞 ST-2 で *Hivep1, 2, 3* のノックダウンを行いマイクロアレイ解析を行ったところ *Hivep* family で共通して発現が増減する骨軟骨形成に関連する遺伝子は存在しなかった。一方で軟骨細胞株 ATDC5 では *siHivep1, 2, 3* 全てで協調的に分化を抑制した。さらに我々は成熟段階の異なる 2 つの細胞株 ST-2 と骨芽細胞株 MC3T3-E1 で *Hivep3* siRNA でのみ発現が低下する遺伝子についてもマイクロアレイで検索を行った。両者で大きく発現変動し、かつ発現量の多い遺伝子 Asparagine-linked Glycosylation 2 (*Alg2*) が同定された。N 結合型グリコシル化は粗面小胞体において行われる蛋白の asparagine-X-threonine/serine モチーフに付加される糖鎖修飾で、標的蛋白の正確な折りたたみに必須で、蛋白の正常機能獲得に不可欠な酵素である。*Alg2* はこの糖鎖の枝分かれ部分のマンノースを付加する糖転移酵素である。ST-2 における BMP-2 の骨芽細胞分化誘導系での *Hivep3* ノックダウンは報告通り骨芽細胞分化を促進したが *Alg2* の強制発現によりキャンセルされた。マウス calvarial bone の explant culture の骨形成系での *Alg2* ウイルス感染実験において *Alg2* は *in vivo* において骨形成を抑制した。*Alg2* は Runx2OSE2 レポーター活性を抑制し、Runx2 と共に免疫沈降した。細胞免疫染色で *Alg2* 過剰発現により、Runx2 は小胞体局在パターンをとり核移行できずに転写機能が抑制されたことが示唆された。軟骨細胞株 ATDC5 では *Hivep3* 過剰発現により軟骨細胞分化が促進し、同時に軟骨細胞形成に必須の小胞体ストレス伝達分子 *Creb3l2* の発現が増加した。一方でマウス metatarsal bone explant culture に *Alg2* ウイルスを感染させると、肥大軟骨基質石灰化領域が増大した。このように *Hivep3* の下流で *Alg2* は骨芽細胞においては分化を抑制し、軟骨細胞においては分化を促進することが示唆された。我々の知りうる限りで、本研究はマンノース付加酵素と骨軟骨細胞分化との関連についての初めての報告である。