

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	① 乙口 口修	第 401 号	氏名	Yang Di
審査委員	主査 岩本 勉 副査 伊藤 博夫 副査 吉本 勝彦			

題目 Histone Demethylase Jmjd3 Regulates Osteoblast Differentiation via Transcription Factors *Runx2* and *Osterix*

(ヒストンデメチラーゼ Jmjd3 は転写因子 *Runx2* と *Osterix* を介して骨芽細胞の分化を調節する)

## 要旨

ヒストン蛋白質はメチル化を含む様々な翻訳後修飾を受けることで、クロマチン構造を変化させ、遺伝子発現を調節する。ヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化 (H3K27me3) は、プロモーター領域を不活化し、遺伝子発現を抑制する。Jmjd3 は H3K27me3 に特異的なヒストン脱メチル化酵素であり、この部位のメチル基を取り除くことで遺伝子発現を促進する。ところが、骨芽細胞の分化や骨形成における Jmjd3 の役割についてはよく分かっていない。本研究では、Jmjd3 が骨に必須の転写因子 *Runx2* と *Osterix* を介して骨芽細胞分化や骨形成を制御するか否かについて検討した。

骨芽細胞様 MC3T3-E1 細胞を分化誘導培地で培養し、ウェスタンブロット法、リアルタイム PCR 法、免疫組織化学的検査により Jmjd3 の発現と局在を調べた。Short hairpin RNA (shRNA) 導入により Jmjd3 発現を抑制した骨芽細胞 (shJmjd3 細胞) を樹立し、石灰化能と骨関連因子の発現を調べた。Jmjd3 に対する small interfering RNA (siJmjd3) を皮下投与したマウス頭蓋冠を摘出し、骨密度、骨添加量と石灰化度を評価した。レポーター遺伝子アッセイおよび抗 H3K27me3 抗体を用いたクロマチン免疫沈降アッセイにより、*Runx2* と *Osterix* のプロモーター領域の活性およびヒストンメチル化状態との関連を調べた。shJmjd3 細胞に *Runx2* および *Osterix* を遺伝子導入し、石灰化能と骨関連因子の発現が回復するか否かを調べた。

骨芽細胞の分化に伴い核内の Jmjd3 の発現が増加した。shJmjd3 細胞では、石灰化能、骨関連因子の発現が低下した。siJmjd3 投与したマウス頭蓋冠では、骨密度、骨添加量と石灰化度が減少していた。shJmjd3 細胞の *Runx2* と *Osterix* のプロモーター活性は低く、その領域の H3K27me3 レベルが亢進していた。*Runx2* および *Osterix* の遺伝子導入により、shJmjd3 細胞の石灰化能と骨関連因子の発現が回復した。本論文で、Jmjd3 が *Runx2* と *Osterix* を介して骨芽細胞分化と骨形成を制御する重要な因子であることを初めて報告した。また、ヒストン蛋白質の脱メチル化による翻訳後修飾が骨芽細胞の分化や骨形成を制御する重要な要素であることを明らかにした。本研究は学術的重要性が高く、生命科学の発展に寄与するところが多大であると考へ、博士 (歯学) の学位授与に値すると判定した。