

研究テーマ (和文) AB	小胞体を起点とする生体機能の制御と破綻				
研究テーマ (欧文) AZ	The regulation and disruption of the biological functions controlled by the signaling from endoplasmic reticulum				
研究氏 代表名 者	カナ CC	姓)サイトウ	名)アツシ	研究期間 B	2012 ~ 2013 年
	漢字 CB	齋藤	敦	報告年度 YR	2013 年
	ローマ字 CZ	Saito	Atsushi	研究機関名	広島大学
研究代表者 所属機関・職名 CD	齋藤 敦・広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 分子細胞情報学・助教				
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)	<p>我々が同定した小胞体ストレストランスデューサーBBF2H7 は軟骨細胞で優生的に発現し、小胞体ストレスに応答して膜内切断を受け、N 末端側が核内へ移行して転写因子として機能する。しかし切断後の C 末端断片の機能や局在は不明であった。我々が作製した BBF2H7 欠損マウスでは軟骨細胞数が顕著に減少していたので、C 末端断片が細胞増殖に関与する可能性を疑った。初代培養軟骨細胞を用いて細胞増殖能を調べると、BBF2H7 欠損細胞で BrdU の取り込みの減少、細胞周期関連遺伝子の発現減少、G1 期から S 期への進行抑制等が見られ、細胞増殖速度が低下していることがわかった。BBF2H7 欠損細胞に転写因子として機能する N 末端断片を発現させても細胞増殖速度は回復しなかった。それに対し小胞体内腔側の C 末端断片を発現させると野生型と同程度まで回復した。C 末端断片の細胞内局在を調べると、切断後、小胞体から速やかに細胞膜側へ移動し、細胞外へと分泌された。分泌された C 末端断片が細胞増殖を促進するメカニズムを解析した結果、C 末端断片はヘッジホッグリガンドの Ihh とその受容体である Ptch1 に作用し、下流シグナルを活性化することで細胞増殖を促進させることがわかった。以上の結果より、小胞体ストレストランスデューサーの新規機能が発見され、小胞体ストレス応答系による新たな細胞間情報伝達のメカニズムが明らかになった。この研究成果をまとめ、現在学術雑誌に投稿中である。</p> <p>さらに我々は BBF2H7 の発現制御機構についても解析した。その結果、軟骨細胞への分化を開始させるマスターレギュレーターとして知られている Sox9 が BBF2H7 のプロモーター領域内に存在する Sox9-binding site に結合し、直接的に BBF2H7 の発現を制御していることを一連のプロモーターアッセイによって証明した。この成果によって成長軟骨発達時における軟骨組織形成の重要な因子である BBF2H7 の発現制御機構が明らかになった。この研究成果をまとめ、現在学術雑誌に投稿中である。</p>				
キーワード FA	小胞体ストレス	軟骨組織	細胞増殖	BBF2H7	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA									
研究機関番号 AC					シート番号									

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要 ^{EZ}

Endoplasmic reticulum (ER) stress transducers recognize unfolded proteins accumulated in ER and transduce signals from ER to cytoplasm or nucleus. The signaling is involved not only in dealing with unfolded proteins but also in biological regulation including differentiation of various cells. One of ER stress transducers BBF2H7, an ER-resident transmembrane transcription factor is processed at the transmembrane region to cytoplasmic N-terminus containing a basic leucine zipper domain and luminal C-terminus in response to ER stress or differentiation stimuli. Cleaved N-terminus promotes transcription of Sec23a, which is involved in ER-Golgi trafficking. However, the fate and functions of luminal C-terminus after the cleavage are not known at all. Previously, we generated *Bbf2h7* deficient (*Bbf2h7*^{-/-}) mice. The mice exhibited severe chondrodysplasia involving impaired secretion of extracellular matrix proteins from ER to extracellular spaces caused by significant decrease of Sec23a expression. Interestingly, the number of chondrocytes was dramatically reduced in *Bbf2h7*^{-/-} cartilage and cell growth of primary cultured *Bbf2h7*^{-/-} chondrocytes were inhibited, but the reasons were not defined. In the present study, we found BBF2H7 C-terminus was secreted from ER lumen of chondrocytes to extracellular spaces via vesicular transport system and exocytosis. The culture medium containing the C-terminus promoted cell growth of chondrocytes and the effects were canceled by absorption of the C-terminus by anti-BBF2H7 antibody from the medium. We demonstrated that secreted BBF2H7 C-terminus directly binds to both indian hedgehog and its receptor Patched-1, and facilitates complex formation of ligand-receptor followed by activation of hedgehog signaling, thereby promoted proliferation of neighboring chondrocytes. Our findings provide novel bidirectional functions of ER stress transducer in proliferation and differentiation of chondrocytes during growth of developing cartilage.

We also investigated the molecular mechanisms of transcriptional activation of *Bbf2h7*. We demonstrated that Sox9, a master regulator for chondrocyte differentiation binds to Sox9-binding site in the *Bbf2h7* promoter region and promotes the expression of BBF2H7 during chondrogenesis. Taken together, Sox9 binds to Sox9-binding site in *Bbf2h7* promoter to promote expression of *Bbf2h7* followed by accelerating cartilage matrix protein secretion through the activation of BBF2H7-Sec23a pathway.