

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10922

研究課題名(和文)メカニカルストレスに応答する軟骨・半月板細胞のDNA損傷修復酵素活性の解析

研究課題名(英文) Mechanical stress regulates the DNA repair enzymes in chondrocytes and meniscus cells.

研究代表者

油井 直子 (Naoko, Yui)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：20266696

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：軟骨細胞と半月板細胞において、メカニカルストレスに応答して「DNA損傷修復酵素調節機構」は防御機構として働くも、外因性ストレスに抗しきれなくなって防御機能が低下すると、関節支持組織としての軟骨と半月板は変性が進行していくことを示唆する知見を得た。これまでに、メカニカルストレスに応答するDNA損傷修復機構と細胞エネルギー代謝(解糖系・ATP産生)調節機構を、軟骨細胞と半月板細胞とで比較し、関節組織のメカニカルストレス応答機構、防御機構および関節変性の機序の解明を通じて、新規治療法開発の糸口が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の対象となる変形性関節症は、関節軟骨の変性・摩耗と二次性滑膜炎および軟骨・骨の新生増殖に基づく進行性の関節変性疾患である。発症早期から関節痛を訴え、病期の進行にしたがって関節痛の増悪と変形による可動性、支持性の低下をきたし、加齢とともに日常生活動作や運動能力は大きく障害される。本邦における患者数は1280万人強と推定され、年間約90万人もの新たな発症者がいるとの報告もある。本研究を通じて、関節軟骨および半月板組織の変性と、メカニカルストレスに応答するDNA損傷修復酵素活性の変化に関する知見が明らかとなり、これを応用する関節軟骨・半月板変性に対する新たな予防・治療法開発の糸口が得られた。

研究成果の概要(英文)：Apyrimidic/apurinic endonuclease 2 (Apex 2) plays a critical role in DNA repair caused by oxidative damage in a variety of human somatic cells. We found that Apex 2 may protect against the mechanical stress-induced catabolic responses in chondrocytes and meniscus cells. The expression of Apex 2 in chondrocytes and meniscus cells may appear to be associated with the degeneration of articular cartilage and could be induced by mechanical stress to protect against the catabolic process of articular cartilage. Our findings suggest that Apex 2 may have the potential to prevent the catabolic stress-mediated down-regulation of chondrocyte and meniscus cells activity in osteoarthritis.

研究分野：スポーツ医学、整形外科

キーワード：DNA repair enzyme chondrocyte meniscus cell mechanical stress

1. 研究背景

本研究の対象となる変形性関節症は、関節軟骨の変性・摩耗と二次性滑膜炎および軟骨・骨の新生増殖に基づく進行性の関節変性疾患である。発症早期から関節痛を訴え、病期の進行にしたがって関節痛の増悪と変形による可動性、支持性の低下をきたし、加齢とともに日常生活動作や運動能力は大きく障害される。本邦における患者数は1280万人強と推定され、年間約90万人もの新たな発症者がいるとの報告もある。

急速な高齢化社会に伴い、2025年には我が国の65歳以上の高齢者人口は30%を超え、寝たきり人口も450万人強と推測され、医療費を含む経済損失が国民総生産の1%に及ぶとされる。医学の進歩により生命予後は延伸されても、機能予後が不良で寝たきりとなる高齢者が増加し、実際の寿命に対する“健康寿命”は、男性で10年、女性で12年も短縮しているという。そのため、高齢になっても寝たきりにならず、自立した生活を送りながら、各世代の能力に応じた社会貢献が可能となる社会が強く望まれ、中高年者に対する運動療法の導入やスポーツ活動への参加が積極的に勧められている。

しかし、加齢とともに運動能力は低下し、変形性関節症に由来した疼痛や筋力低下が弊害となって、健康保持を目的とする運動療法やスポーツ活動でさえ十分に行えないことも多い。一方、スポーツに携わる若年世代にとっても、過大な運動負荷による関節障害の発生(靭帯・半月板損傷の発生、重症例の外科的半月板切除、軟骨保護機構の破綻等)が問題になることがある。さらには軟骨細胞・組織の損傷から関節軟骨の変性へと、不可逆的な病態にまで進展する症例もみられ、不十分な治療のままでは、将来的な変形性関節症予備軍を置き去りにする結果となってしまふ。

2. 研究の目的

変形性関節症の病因・病態に關与するメカニカルストレスに対して、軟骨細胞および半月板由来細胞がどのように応答するか(ストレス応答機構)については、未だ不明な点が多い。我々は一連の研究から、軟骨変性には細胞のDNA損傷、その防御因子(DNA修復酵素)の発現変化および細胞エネルギー代謝調節機構の変化が關与することを示唆する所見を得てきた。これらを基盤に、メカニカルストレス応答の分子メカニズムと軟骨および半月板組織の変性機序の解明に向けて、次の研究を行った。

- (1) 軟骨細胞および半月板由来細胞のメカニカルストレス応答機構解明、軟骨変性との関連
- (2) メカニカルストレスに応答する軟骨細胞および半月板由来細胞のDNA修復酵素活性およびエネルギー代謝調節機構の変化

3. 研究の方法

ストレス応答因子(DNA損傷修復酵素)に関する以下の検討を行なった。

- i) 軟骨細胞および半月板由来細胞内のDNA損傷検証
- ii) DNA修復酵素活性変化、エネルギー代謝の検証

iii) DNA 修復酵素欠損細胞、過剰発現細胞における細胞活性の評価

iv) 関節軟骨・半月板組織におけるストレス応答因子発現度と関節変性度との関連

4. 研究成果

DNA 損傷に対する防御機構として、DNA 修復酵素 AP エンドヌクレアーゼ (APEX2) や Ogg1(8-oxoguanine DNA glycosylase)の発現変動が疾患の病因・病態に関与することが指摘されている。近年、DNA 塩基酸化体に対する DNA 修復酵素の発現低下が、筋萎縮性側索硬化症やアルツハイマー病の神経細胞において確認され、神経変性疾患の病因・病態との関連が注目されている。

我々のこれまでの研究から、変性軟骨における DNA 塩基酸化体 (DNA 損傷) の発現度は正常軟骨に比して高く、逆に DNA 修復酵素 (Ogg1, APEX2) の発現度は変形性関節症の軟骨組織変性度と相関して低下していることを見出した。正常軟骨細胞には DNA 修復酵素 Ogg1 や APEX2 が高発現していた。すなわち、軟骨変性部では DNA 損傷の結果としてグアニンなどの DNA 酸化体などが高発現している。これに反応して DNA 修復酵素 (APEX2, Ogg1)活性は亢進するが、DNA 損傷の程度が DNA 修復酵素による修復能を上回った場合には、DNA 損傷が蓄積し、細胞死や軟骨組織の恒常性低下、軟骨変性につながっていくと考え、半月板組織においても同様の機序が病態に関連しているか否かを明らかにする研究を続けてきた。これまでの研究から、これら DNA 損傷修復酵素の発現度とメカニカルストレス応答との関連について知見が得られた。

また、我々はこれまでに、変性軟骨由来の軟骨細胞のエネルギー代謝 (グルコース取り込み、アデノシン三リン酸 ATP 産生) は正常軟骨細胞に比べて低下していること、ATP 産生量を制御する細胞内のエネルギーセンサーとしての役割を担う 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK)活性も、メカニカルストレスに反応して発現度が変化することを見出した。さらに、最近我々は軟骨細胞に発現する「NAD 依存性脱アセチル化酵素活性」を持つ Sirtuin1 が、「エネルギーセンサーである AMPK 活性」を制御していることを初めて見出した。

本研究を通じて、関節軟骨および半月板組織の変性と、メカニカルストレスに反応する DNA 損傷修復酵素活性の変化に関する知見が明らかとなり、これを応用する関節軟骨・半月板変性に対する新たな予防・治療法開発の糸口が得られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kumai Takanori, Yui Naoko, Yatabe Kanaka, Sasaki Chizuko, Fujii Ryoji, Takenaga Mitsuko, Fujiya Hiroto, Niki Hisateru, Yudoh Kazuo	4. 巻 Volume 14
2. 論文標題 <p>A novel, self-assembled artificial cartilage–hydroxyapatite conjugate for combined articular cartilage and subchondral bone repair: histopathological analysis of cartilage tissue engineering in rat knee joints</p>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Nanomedicine	6. 最初と最後の頁 1283 ~ 1298
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.2147/IJN.S193963	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Terauchi Koh, Kobayashi Hajime, Yatabe Kanaka, Yui Naoko, Fujiya Hiroto, Niki Hisateru, Musha Haruki, Yudoh Kazuo	4. 巻 17
2. 論文標題 The NAD-Dependent Deacetylase Sirtuin-1 Regulates the Expression of Osteogenic Transcriptional Activator Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2) and Production of Matrix Metalloproteinase (MMP)-13 in Chondrocytes in Osteoarthritis	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1019
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.3390/ijms17071019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yui N, Yudoh K, Fujiya H, Musha H.	4. 巻 5
2. 論文標題 Mechanical and oxidative stress in osteoarthritis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Physical Fitness and Sports Medicine	6. 最初と最後の頁 81-86
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshioka Hiroataka, Yui Naoko, Yatabe Kanaka, Fujiya Hiroto, Musha Haruki, Niki Hisateru, Karasawa Rie, Yudoh Kazuo.	4. 巻 11(5)
2. 論文標題 Polyhydroxylated C60 Fullerenes Prevent Chondrocyte Catabolic Activity at Nanomolar Concentrations in Osteoarthritis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Int. J. Clin. Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 70-76.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yui N, Musha H, Fujiya H, Yatabe K, Yoshioka H, Terauchi K, Yudoh K.
2. 発表標題 The Role of ATP-Activated Protein Kinase(AMPK) in the Chondrocyte Energy Balance and IL-1 β -induced Production of MMP-13 in Osteoarthritis(OA).
3. 学会等名 OARSI 2016 World Congress April 2016(Amsterdam). (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 小林創, 油井直子, 寺内昂, 藤谷博人, 遊道和雄, 仁木久照, 武者春樹.
2. 発表標題 変形性関節症の軟骨細胞におけるエネルギー代謝とSirtuin1との関連について.
3. 学会等名 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 2016年10月(福岡).
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 寺内昂, 遊道和雄, 小林創, 油井直子, 藤谷博人, 仁木久照, 武者春樹.
2. 発表標題 NAD依存性脱アセチル化酵素Sirtuin1と骨形成転写因子Runx2の変性軟骨細胞における役割.
3. 学会等名 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 2016年10月(福岡).
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	遊道 和雄 (Yudoh Kazuo) (60272928)	聖マリアンナ医科大学・医学研究科・教授 (32713)	

