

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09492

研究課題名(和文) 機械的ストレスにตอบสนองする軟骨の核酸修復とエネルギー代謝の相関解析、治療法への応用

研究課題名(英文) Mechanical stress mediates the DNA repair enzyme and energy metabolism in chondrocytes in osteoarthritis.

研究代表者

遊道 和雄 (Kazuo, Yudo)

聖マリアンナ医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：60272928

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：骨関節変性の病因・病態の主要因であるメカニカルストレスに注目して、力学的ストレスにตอบสนองするエネルギー代謝調節因子を解析した。その結果、力学的ストレスにตอบสนองし、軟骨細胞のエネルギー代謝は一過性に亢進し、ミトコンドリア内のクエン酸回路・電子伝達系の亢進により、過剰のフリーラジカル・活性酸素が発生して漏出すること、これがDNA酸化損傷の一因となること、さらにATP産生量を制御する細胞エネルギーセンサーとしての役割を担うsirtuin-1の活性はメカニカルストレスにตอบสนองして変化しストレス応答因子として細胞エネルギー代謝ばかりでなくDNA修復酵素活性を調整する可能性を示唆する研究成果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、メカニカルストレスにตอบสนองする「軟骨細胞のDNA損傷修復機構」と「細胞エネルギー代謝の調節因子」の相互作用・ネットワークを詳解してきた。メカニカルストレスに対して、軟骨細胞がどのようにตอบสนองするか、防御機構はあるのか、軟骨変性機序と荷重ストレス応答との関連については不明な点が多く、この違いを解明することでOAの病因・病態の解明と新規治療法開発の糸口を得る研究を進めていく。これまでに得られた軟骨細胞のDNA修復酵素活性と細胞エネルギー代謝調節因子との関連に関する研究成果を基盤に、軟骨変性の機序を解明して、治療法開発の基盤を確立したいと考えている。

研究成果の概要(英文)：Recent reports clearly indicate that chronic excess production of reactive oxygen species (ROS) from chondrocytes, which is induced by mechanical force to cartilage, plays an important role in cartilage degeneration occurring after mechanical injury to cartilage in osteoarthritis (OA). Apurinic/apyrimidinic endonuclease 2 (Apex2) is an essential DNA repair enzyme that plays a critical role in DNA repair against the oxidative damage in a variety of human somatic cells. The expression of DNA repair enzyme Apex2 and energy sensor sirtuin 1 in chondrocytes were associated with the degeneration of articular cartilages and was induced by OA-relating catabolic factors. Our findings suggest that DNA repair enzyme and energy metabolic factor may have a potential to prevent the catabolic stress-mediated down-regulation of chondrocyte activity in OA.

研究分野：軟骨代謝

キーワード：軟骨代謝 細胞エネルギー代謝 核酸修復酵素 長寿遺伝子関連蛋白

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

肥満、過荷重や関節の overuse による関節への過度の力学的ストレスは、軟骨細胞の活性低下、軟骨コラーゲン基質の変性・破壊、軟骨下骨層の変性および関節機能障害を惹起し、変形性関節症 (osteoarthritis, OA) の病因病態に関与すると考えられている。しかし、軟骨細胞が力学的ストレスを、どのように感受し応答するか（ストレス感受・応答因子）、病的・過剰な力学的ストレスに対して防御反応・機構はあるのか、さらに力学的ストレス感受・応答機構と軟骨変性機序との関連には、未だ解明すべき点が多く、これらの解明は新規治療法開発につながると考える。

我々はこれまでに、力学ストレスの感受・応答因子として、軟骨細胞のエネルギー調節因子とミトコンドリア機能の重要性を解析し、DNA 損傷修復酵素活性の調整と軟骨変性との関連を報告してきた。さらに、軟骨細胞のミトコンドリア機能変化に加えて、不良ミトコンドリアのオートファージ（自食作用・マイトファージ）の重要性に注目して研究を進めている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、力学的ストレスに応答した軟骨細胞のミトコンドリア機能変化に加えて、不良ミトコンドリアのオートファージ（自食作用・マイトファージ）の低下と、軟骨変性機序との関連の解明し、治療法開発の糸口を得ることである。

3. 研究の方法

DNA 修復酵素活性を調整するエネルギー代謝調節因子 (Glut1, Sirt-1) の発現を抑制または増強させる薬剤を用いて、これらの薬剤の影響下における力学的ストレス負荷時のエネルギー産生能、DNA 修復酵素活性、ミトコンドリア機能（膜電位, ATP 産生・NAD⁺量の低下, 乳酸産生の増加, 細胞内活性酸素）を比較し、力学的ストレスに応答するミトコンドリア機能を分析した。

4. 研究成果

- (1) 我々はこれまでに、OA 軟骨細胞において、NAD 依存性脱アセチル化酵素活性をもつ細胞エネルギーセンサー Sirtuin (Sirt)-1 は、軟骨細胞の DNA 修復酵素 (APEX2, Ogg1) 活性化ばかりでなく、肥大軟骨化に関与する転写因子 Runx2 活性も制御することで DNA 損傷修復、骨棘形成および軟骨基質分解酵素の産生を調整し、OA 病態に関与することを見出した。
- (2) 次に、軟骨細胞のエネルギー代謝の亢進に伴ってミトコンドリア・電子伝達系から漏出した過剰な活性酸素種は、DNA 損傷の一因となること、エネルギー代謝調節因子 Sirt-1 と AMPK 活性は力学的ストレスに応答して変化し、協調してミトコンドリア機能を調節する可能性と、OA 軟骨細胞のミトコンドリア機能は力学的ストレスに応答して変化する可能性があることが示唆された。
- (3) 力学的ストレスが細胞膜上のグルコース輸送体 Glut1 活性化を介してグルコース取り込み

を増加させ、これに応答して細胞エネルギー調節因子 Sirt-1 活性は低下、その結果 Sirt-1 が抑制している肥大軟骨化・骨化の転写因子 Runx2 発現は逆に増強、Sirt-1 が調整している DNA 修復酵素活性も抑制されて DNA 損傷は亢進し、軟骨変性・骨棘形成の一因となることを見出した。このように、力学的ストレスに応答したエネルギー代謝調節因子 Glut1-Sirt-1 シグナル伝達路を介する「DNA 損傷」と「転写因子 Runx2 の活性化」が、軟骨変性や骨棘形成に繋がる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Kazuo Yudoh, Yodo Sugishita, Yuki Suzuki-Takahashi	4. 巻 24(10)
2. 論文標題 Bone development and regeneration 2.0.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8761
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yudoh Kazuo, Sugishita Yodo, Suzuki-Takahashi Yuki	4. 巻 24
2. 論文標題 Bone Development and Regeneration 2.0	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8761～8761
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24108761	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 藤井亮爾, 小松梨恵, 仁木久照, 遊道和雄
2. 発表標題 コラーゲン誘導関節炎マウスにおけるCDK6阻害剤とTNF阻害剤の併用効果
3. 学会等名 第66回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 染村嵩, 遊道和雄, 熊井隆智, 谷田辺かなか, 佐々木千鶴子, 藤谷博人, 仁木久照
2. 発表標題 骨芽細胞におけるグルコース輸送体1の活性化により誘導される骨形成能の促進
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松梨恵, 藤井亮爾, 仁木久照, 遊道和雄
2. 発表標題 CDK6阻害剤とTNF阻害剤の併用による抗関節炎効果の検討
3. 学会等名 第37回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2022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	藤井 亮爾 (Fujii Ryoji) (10333535)	聖マリアンナ医科大学・医学研究科・准教授 (32713)	
研究分担者	唐澤 里江 (Karasawa Rie) (50434410)	聖マリアンナ医科大学・医学研究科・准教授 (32713)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------