

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670629

研究課題名(和文) 関節軟骨におけるオートファジー機構の解明と上流シグナルの探索

研究課題名(英文) Autophagy mechanism in cartilage chondrocytes.

研究代表者

川口 浩(Kawaguchi, Hiroshi)

東京大学・医学部附属病院・届出診療医

研究者番号：40282660

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：培養軟骨細胞において低酸素ストレス、飢餓ストレスを与えて観察したところ、他の細胞で既知の反応であるオートファジー関連因子の発現・活性上昇のトリガーの一つとして転写因子HIF1Aの安定化が関与することが判明した。Hif1a-floxマウスから関節軟骨細胞を単離して、アデノウイルスを用いてCreリコンビナーゼを導入してHif1aをノックアウトしたところ、オートファジーの誘導は部分的にキャンセルされたが、同時に細胞死の亢進も観察され、Mmp13などの軟骨基質分解酵素の発現が誘導された。このメカニズムは変形性関節症の病態の一端を担う可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：We observed mouse primary chondrocytes with hypoxia or starvation stress, and found that stabilization of transcription factor HIF1A participated as one of the trigger of the induction of expression and activity of the autophagic factor known in the other cells. Knockout of Hif1a in the isolated joint cartilage cells from Hif1a-flox mouse introduced Cre recombinase with an adenovirus, canceled activation of the autophagy partially, but enhanced the cell death at the same time and the expression of cartilage substrate degrading enzymes such as Mmp13. This mechanism might play a role of making the pathological condition such as osteoarthritis.

研究分野：整形外科学

キーワード：変形性関節症 関節軟骨 低酸素 オートファジー

1. 研究開始当初の背景

近年の社会高齢化に伴い、運動器変性疾患の罹患数は急増している。それに対して臨床現場では長年の間、人工関節置換術やリハビリテーションなどの侵襲的あるいは姑息的な対症療法に終始している。変形性関節症の発症にかかわる大きな要素の一つに加齢があるが、近年加齢とともに関節軟骨における変化因子の一つとしてオートファジーが注目されている。オートファジーとは細胞内タンパクを分解するための機構の一つであり、異常タンパクの蓄積を防いだり、低栄養状態になったときに細胞内タンパクを再利用したりするなど、細胞の恒常性維持に重要な役割を果たしている。変形性関節症罹患患者の関節軟骨において、正常軟骨と比較してオートファジー機能の低下が明らかとなっていることから、オートファジーは何らかの機序で関節軟骨を保護する作用を有していると考えられる。また心筋や癌の組織細胞において低酸素状態がオートファジーの制御にかかわることが知られているが、関節軟骨では恒常的に低酸素状態となっていることから、低酸素と関節軟骨保護を結びつける機構としてもオートファジーが重要であることが示唆される。

2. 研究の目的

関節軟骨におけるオートファジーの機能と役割を広く検証し、さらにその上流シグナルを探索することによって、変形性関節症などの関節

疾患の治療薬開発に繋がる知見を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

関節軟骨におけるオートファジーの過程を *in vitro*、*in vivo* で詳細に観察し、関節軟骨の維持・変性との関連を調べるとともに、オートファジーを軟骨特異的に阻害するノックアウトマウスを作製して関節軟骨におけるオートファジーの作用を解析する。さらにパスウェイ解析によってオートファジーに關係する遺伝子発現の変化を捉え、上流シグナルを探索する。また低酸素状態下でのオートファジー活性や制御シグナルの変化を解析する。

4. 研究成果

培養軟骨細胞において低酸素ストレス、飢餓ストレスを与えて観察したところ、他の細胞で既知の反応であるオートファジー関連因子の発現・活性上昇のトリガーの一つとして転写因子 HIF1A の安定化が関与することが判明した。関節軟骨特異的に Hif-1a をノックアウトしたマウスを作製し、その関節軟骨を解析したところ、オートファジーの低下とともに、細胞死の亢進や軟骨基質分解酵素の発現増加が見られた。すなわち、低酸素状態における HIF-1A の安定化は、関節軟骨におけるオートファジーを少なくとも部分的に制御しており、変形性関節症の成因に関与していることが判明した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

Transcription factor Hes1 modulates osteoarthritis development in cooperation with calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2.

Sugita S, Kawaguchi H et al., Proc Nat Acad Sci USA 2015 (112) 3080-3085.

Identification of SCAN domain zinc-finger gene ZNF 449 as a novel factor of chondrocytes.

Okada K, Kawaguchi H et al., PLoS One 2014 (9) e115169.

Regulation of Mouse Chondrocyte Differentiation CCAAT/Enhancer-binding proteins.

Okuma T, Kawaguchi H et al., Biomed Res 2015 (36) 21-29.

Identification of fibroblast growth factor-18 as a molecule to protect adult articular cartilage by gene expression profiling.

Mori Y, Kawaguchi H et al., J Biol Chem 2014 (269) 10192-10200.

[学会発表] (計 3 件)

関節軟骨の形成・維持における Hif-1a の機能解析、
岡田慶太、川口浩ほか、

2015 年 3 月 6 日、第 28 回日本軟骨代謝学会、東京

HIF-1a IS ESSENTIAL FOR ARTICULAR CARTILAGE HOMEOSTASIS THROUGH INDUCTION OF ANABOLIC FACTORS AND SUPPRESSION OF CATABOLIC FACTORS.

Okada K, Kawaguchi H et al., Annual meeting of the American Society for bone and mineral research, 16/9/2014, Houston.

HIF-1a REGULATES CONFIGURATION AND MAINTENANCE OF ARTICULAR CARTILAGE THROUGH INDUCTION OF ANABOLIC FACTORS AND SUPPRESSION OF CATABOLIC FACTORS.

Okada K, Kawaguchi H et al., Annual Meeting of Osteoarthritis Research Society International, 16/4/2014, Paris.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

東京大学整形外科学教室

<http://www.u-tokyo-ortho.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川口 浩 (KAWAGUCHI, Hiroshi)
東京大学・医学部附属病院・届
出診療医
研究者番号 : 40282660

(2)研究分担者

田中 健之 (TANAKA, Takeyuki)
東京大学・医学部附属病院・助
教
研究者番号 : 00583121

澤田 良子 (SAWADA, Ryoko)
東京大学・医学部附属病院・特
任研究員
研究者番号 : 30648308