

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11035

研究課題名(和文)メカニカルストレスに対する軟骨細胞の応答機構の解明と軟骨変性の治療法開発への応用

研究課題名(英文) Mechanical stress regulates the chondrocyte activity through the cellular energy metabolism in osteoarthritis.

研究代表者

遊道 和雄 (Yudo, Kazuo)

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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：メカニカルストレスに対して、軟骨細胞がどのように応答するか、特に「メカニカルストレス応答調節機構」(細胞内のストレス応答蛋白、細胞応答情報伝達路)、「DNA修復酵素の活性変化」および「細胞エネルギー代謝の調節機構」と「軟骨変性機序」との関連について解析を進め、(1)軟骨細胞のメカニカルストレスに対する防御機構としてのストレス応答機構の変化が軟骨変性に関与することを明らかにし、(2)メカニカルストレスに応答する軟骨細胞のDNA修復酵素活性およびエネルギー代謝調節機構の変化を検証、これらの調節機構の変化・破綻が、軟骨変性の誘因となるか否かを実験的変形性関節症モデルで検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、変形性関節症の発症に密接に関わるメカニカルストレスに対する軟骨細胞の応答機構の分子メカニズムに着目し、軟骨変性機序との関連について解明を試みる初めての基礎的研究で、軟骨変性の機序を「軟骨細胞のメカニカルストレス応答」と、「DNA損傷修復」および「エネルギー代謝」との関連の観点から詳解し、新規の病因・病態解析および予防・治療法開発研究の糸口を得られた。

研究成果の概要(英文)：Mechanical stress is a critically-important factor affecting bone tissue homeostasis. To determine whether physiologic mechanical loading affects the expression of factors regulating energy metabolism and transcription factors controlling chondrocyte differentiation, we focused on the interaction among mechanical stress, DNA repair enzymes and the cellular energy sensor sirtuin 1 (SIRT1) in cellular energy metabolism, since it has been recognized that SIRT1, an NAD⁺-dependent deacetylase, may function as a master regulator of mechanical stress response as well as cellular energy metabolism. To further understand the involvement of sirtuins in the “cellular metabolism” and “stress tolerance” is conducive to the new insights into the pathophysiology and the development of novel therapies for a variety of osteoarthritis. We demonstrated the critical important roles of sirtuins in the cellular metabolism and response to mechanical stresses in osteoarthritic chondrocytes.

研究分野：関節外科学

キーワード：変形性関節症 軟骨代謝 メカニカルストレス 細胞エネルギー代謝

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症 (osteoarthritis, OA) の現状と対策の必要性) : 本研究の対象となる変形性関節症 (OA) は、関節軟骨の変性・摩耗と、二次性滑膜炎および骨の新生増殖に基づく進行性の関節変性疾患で、加齢とともに日常生活動作や運動能力は低下していく。本邦のOA患者数は1280万人強と推定され、さらに年間約90万人の新たな発症者がいると報告されている。現状、OAの進行を抑制しうる予防・治療法は未だ開発されていない。有効な予防法と治療法を開発するためには、軟骨変性の病因・病態と密接に関与するメカニカルストレスの感受・応答機構を解明する必要があると考える。

しかし、OAの発症・病態の要因である「メカニカルストレスに対して軟骨細胞がどのように応答するか(ストレス応答機構)」、「防御機構」、「ストレス応答と軟骨変性機序との関連」については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

加齢、肥満、過荷重や関節の酷使(overuse)による関節への過度の機械的ストレス(メカニカルストレス)は、軟骨細胞の活性低下、軟骨コラーゲンなど基質の変性・破壊、軟骨下骨層の変性と関節機能障害を惹起し、変形性関節症(osteoarthritis, OA)の発症・病態に関与すると考えられている。しかし、メカニカルストレスに対して、軟骨細胞がどのように応答するか(メカニカルストレス感受・応答機構)、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い。本研究では、「生理的荷重ストレス」と「病的な過剰な荷重ストレス」に対する軟骨細胞の応答能の違いがあるか否か、その違いの詳細と機序を解明することでOAの病因・病態の解明と新規治療法開発の糸口を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

本申請では、これまでの軟骨細胞の 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、以下の研究計画を進める。

- (1) 培養軟骨細胞を用いて、DNA修復酵素活性、細胞エネルギー代謝および調節機構[細胞呼吸鎖：解糖系～電子伝達系、エネルギー調節因子Sirtuin 1 活性、細胞エネルギーセンサー・AMP-activated protein kinase (AMPK)活性]を既報のin vitro実験法により解析する。
- (2) (1)の実験結果を基に、軟骨細胞活性と上記各細胞エネルギー代謝関連因子の活性との関連を解析した。

4. 研究成果

我々はこれまでに、OA軟骨細胞のエネルギー代謝(細胞呼吸鎖：解糖系～電子伝達系)の調節因子「Sirtuin 1」と「細胞エネルギーセンサー・AMP-activated protein kinase (AMPK)」は、相互に関連して(Sirt-1-AMPKフィードバック機構)、エネルギー調節に重要な役割を担うことを明らかにした。また、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Sirtuin-1が、「肥大軟骨化」と「マトリックス分解酵素 MMP-13 活性化」に関与する骨形成転写因子Runx2を制御することで、骨棘形成と軟骨基質分解酵素

の産生を調整し、OAの病態に関与することを初めて見出した。

これら「軟骨細胞における Sirtuin 1」と「軟骨細胞エネルギー代謝調節機構としての Sirtuin 1-AMPK フィードバック機構」とは密接に関連し、軟骨に対する OA 誘導因子(IL-1 b) に応答して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り、相互の防御機能が低下すると軟骨変性が進行することを示唆する知見を得た。

今後は、メカニカルストレスに応答する「軟骨細胞の DNA 損傷修復機構」と「細胞エネルギー代謝（解糖系-クエン酸回路-電子伝達系）の調節因子」の相互作用・ネットワークを詳解し、軟骨のメカニカルストレス応答機構、防御機構ならび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。

これにより、未解明の課題である生理的荷重レベルと、過剰な病的荷重レベルのメカニカル ストレスに対する細胞の防御因子としての「DNA 修復調節機構」と「軟骨細胞エネルギー代謝調節因子」の相互作用を明らかにし、OA 病因・病態解明、新規治療法開発のための糸口を得ていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 11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 A novel, self-assembled artificial cartilage and hydroxyapatite conjugate for combined articular cartilage and subchondral bone repair: histopathological analysis of cartilage tissue engineering in rat knee joints.	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) 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 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 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.	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) 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 Fujii Ryoji, Komatsu Rie, Sato Tomoo, Seki Iwao, Konomi Koji, Aono Hiroyuki, Niki Hisateru, Yudoh Kazuo, Nishioka Kusuki, Nakajima Toshihiro	4. 巻 19
2. 論文標題 SPACIA1/SAAL1 Deletion Results in a Moderate Delay in Collagen-Induced Arthritis Activity, along with mRNA Decay of Cyclin-dependent Kinase 6 Gene	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3828 ~ 3828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19123828	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 Karasawa Rie, Tamaki Mayumi, Sato Toshiko, Tanaka Megumi, Nawa Makiko, Yudoh Kazuo, Jarvis James N.	4. 巻 57
2. 論文標題 Multiple target autoantigens on endothelial cells identified in juvenile dermatomyositis using proteomics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 671 ~ 676
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/kex468	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 K, Karasawa Rie.	4. 巻 2(5)
2. 論文標題 Effects of low-level laser therapy on clinical characteristics and laboratory profiles in synovitis in patients with rheumatoid arthritis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Novel Techniques in Arthritis and Bone Research	6. 最初と最後の頁 1-8
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 K, Yoshioka H, Yui N, Karasawa R.	4. 巻 7(4)
2. 論文標題 Therapeutic Potential of Nanocarbon C60 Fullerene in Osteoarthritis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Development Research	6. 最初と最後の頁 12450-12453
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 Kobayashi H, Terauchi K, Yui N, Yatabe K, Kamada T, Fujiya H, Niki H, Musha H, Yudoh K.	4. 巻 6(238)
2. 論文標題 The Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD)-Dependent Deacetylase Sirtuin-1 Regulates Chondrocyte Energy Metabolism through the Modulation of Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK) in Osteoarthritis (OA).	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Arthritis	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4172/21677921.1000238.	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 2.Karasawa R, Tamaki M, Sato T, Tanaka M, Nawa M, Yudoh K, Jarvis JN.	4. 巻 -
2. 論文標題 Multiple target autoantigens on endothelial cells identified in juvenile dermatomyositis using proteomics.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Rheumatology (Oxford)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/kex468.	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 K, Yui N, Kumai T, Karasawa R.	4. 巻 2(3)
2. 論文標題 Cell-to-Cell Interactions of Activated T Cells with Adjacent Cells in Inflamed Tissue in Inflammatory Diseases.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Novel Techniques in Arthritis & Bone Research	6. 最初と最後の頁 1-6
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 Shinagawa S, Okazaki T, Ikeda M, Yudoh K, Kisanuki Y, Yanagisawa M, Kawahata K, Ozaki S.	4. 巻 7
2. 論文標題 T cells upon activation promote endothelin 1 production monocytes via IFN- and TNF- .	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-14202-05	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 K, Kumai T, Fujiya H, Yui N, Karasawa R.	4. 巻 1(2)
2. 論文標題 Cartilage Tissue Engineering-A Novel Biomaterial for Cartilage Repair Generated by Self-Assembly: Creation of a Self-Organized Articular Cartilage-like Tissue.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Novel Techniques in Arthritis & Bone Research	6. 最初と最後の頁 1-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.19080/NTAB.2017.01.555557	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4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, 中島利博, 仁木久照, 遊道和雄.
2. 発表標題 関節リウマチ滑膜細胞において TNF は cdk4 ではなく cdk6 遺伝子を発現誘導する.
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松梨恵, 關巖, 佐藤知雄, 許斐康嗣, 青野浩之, 遊道和雄, 仁木久照, 西岡久寿樹, 中島利博, 藤井亮爾.
2. 発表標題 SPACIA1/SAAL1の遺伝子欠損はCDK6のmRNA分解に関与し、CIAモデルにおける関節炎の進展を軽減する.
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小松梨恵, 關巖, 佐藤知雄, 許斐康嗣, 青野浩之, 遊道和雄, 仁木久照, 西岡久寿樹, 中島利博, 藤井亮爾.
2. 発表標題 マウスコラーゲン誘導関節炎の重症度の違いにおけるSPACIA1/Saal1遺伝子欠損の影響.
3. 学会等名 第63回日本リウマチ学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊井隆智, 遊道和雄, 小谷貴史, 谷田部かなか, 油井直子, 仁木久照, 藤谷博人
2. 発表標題 三次元培養下における骨芽細胞および破骨細胞の力学的ストレス応答能の解析
3. 学会等名 第34回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 遊道和雄	4. 発行年 2017年
2. 出版社 アレルギーの臨床	5. 総ページ数 69-73.
3. 書名 関節リウマチと変形性関節症.	

〔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	油井 直子 (Yui Naoko) (20266696)	聖マリアンナ医科大学・医学部・講師 (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