

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K11345

研究課題名(和文) 軟骨・半月細胞の機械的ストレスに応答する核酸修復・エネルギー代謝の解析と治療開発

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

研究代表者

油井 直子 (Yui, Naoko)

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、力学的ストレスに応答し、軟骨細胞および半月板細胞のエネルギー代謝(グルコース取り込み、ATP産生)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活性酸素種が発生して漏出すること、この過剰な活性酸素種がDNA酸化損傷の一因となることを確認した。また、ATP産生量を制御する細胞内エネルギーセンサーの役割を持つ5'-AMP-activated protein kinaseとNAD依存性脱アセチル化酵素活性を持つsirtuin-1は、相互に正のフィードバック機構を形成して細胞エネルギー代謝を調節し、力学的ストレスに応答して変化することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

関節への過度の力学的ストレスは、軟骨細胞・半月板細胞の活性低下、軟骨コラーゲンや半月板など基質の変性・破壊、軟骨下骨層の変性および関節機能障害を惹起し、変形性関節症などの関節障害の病因病態に關与すると考えられている。これまで、軟骨細胞および半月細胞が力学的ストレスをどのように感受して応答するのか(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・応答機構と関節変性機序との関連については未解明な点が多かったが、本研究によって軟骨細胞・半月板細胞の力学的ストレス応答機構の解明の糸口が得られた。さらに研究を進め、治療法開発につなげていく。

研究成果の概要(英文)：The excessive mechanical stress to joint with aging, obesity and overload may induce the down-regulation of cellular activities chondrocytes and meniscus cells, the degeneration of matrix components in articular cartilage and meniscus tissues, leading to the joint functional disorder. Mechanical stresses to articular cartilage and meniscus tissues are closely involved in the pathophysiology and pathogenesis of osteoarthritis. However, it still remains unknown how chondrocytes and meniscus cells respond to mechanical stress, and what the sensor for mechanical stress is in joint tissues. In addition, it is unclear whether or not there is a protective mechanism against mechanical stress in joint tissues. In the present study, we revealed the regulatory effects of mechanical stress on the DNA repair and the energy metabolism in articular chondrocytes and meniscus cells.

研究分野：スポーツ医学

キーワード：力学的ルストレス 細胞エネルギー代謝 核酸修復酵素 軟骨細胞 半月板細胞

1. 研究開始当初の背景

急速な社会の高齢化に伴い、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は国民総生産の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、男女ともに約10年も短縮している。高齢になっても寝たきりにならず、いつまでも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る。その対策として、中高年者に対する健康増進を目的とした運動療法の導入や、スポーツ活動への参加啓蒙がより積極的に勧められている。

しかし、加齢にともない運動能力は低下し、骨粗鬆症や変形性関節症(osteoarthritis, OA)の罹患率は上昇していくため、関節痛や筋力低下が弊害となって健康保持のためのスポーツ活動でさえ十分に行えないことも多い。一方、各世代のスポーツ熱は盛んになっており、高齢者にとどまらず、若年者にとってもスポーツにおける過度な運動負荷(力学的ストレス)は関節障害の一因となり、半月板損傷、軟骨保護機構の破綻、さらには関節軟骨の変性へと、不可逆的な病態にまで進展をきたすこともある。

こういった臨床的背景から、OAは高齢者だけの病態にとどまらず、若年者にとっても重要な問題であるが、骨・軟骨・半月板などの支持組織を含めて関節変性を抑制しうる治療法は未だ開発されていない。今後、根本的な予防法と治療法の解明につなげるためにも、OA発症の機序を関節構成組織(骨、軟骨、半月板、筋腱)の相互関係を含めて研究することは、各世代の人々の健康増進への寄与につながると考える。

2. 研究の目的

各世代のスポーツ熱は盛んになっており、高齢者にとどまらず、若年者にとってもスポーツにおける過度な運動負荷・力学的ストレスは関節障害の一因となり、半月板損傷、軟骨保護機構の破綻、さらには関節軟骨の変性へと、不可逆的な病態にまで進展をきたすこともある。

我々はこれまでに、軟骨および半月板の変性部では、DNA損傷の結果としてグアニンなどのDNA酸化体が高発現し、これにตอบสนองしてDNA修復酵素活性は亢進するが、DNA損傷度が修復を上回った場合にはDNA損傷が蓄積し、細胞死や組織の恒常性低下を経て、軟骨・半月板は変性していくことを報告してきた。さらに、力学的ストレスにตอบสนองする軟骨細胞と半月板細胞のDNA修復酵素活性および細胞エネルギー代謝(ATP産生)の調節機構の変化は、相関して関節変性の誘因となる機序を報告してきた。

これらの研究成果を基に、本研究では力学的ストレスを軟骨細胞と半月板細胞が各々どのように感受して応答するか・その違い、力学的ストレス応答の機序と軟骨・半月板変性との関連、病的・過剰な力学的ストレスに対する防御機構を解析することを目的とした。

3. 研究の方法

これまでに確立した培養細胞(軟骨細胞・半月板細胞)を用いた3次元培養力学的ストレスモデルを用いて、以下のi)~iii)を検討した。

- (1) 生理的・過剰な病的力学的ストレスにตอบสนองする軟骨細胞・半月板細胞のDNA損傷およびDNA修復酵素活性の変化を比較解析
- (2) 生理的・過剰な病的力学的ストレスにตอบสนองした軟骨細胞・半月板細胞の細胞エネルギー代謝機構(調節因子群の活性変化)を解析
- (3) 軟骨細胞・半月板細胞において、力学的ストレスにตอบสนองするエネルギー代謝機構の変化がDNA修復にどのように影響し合うかを上記i), ii)の結果を通じて詳解

4. 研究成果

本研究から、(1)力学的ストレスにตอบสนองした軟骨及び半月板由来細胞からの活性酸素の過剰産生が、DNA損傷および修復酵素活性化に影響すること、(2)細胞エネルギー代謝(ATP産生・解糖系-ミトコンドリア電子伝達系)の調節機構の変化が軟骨・半月板変性の誘因となり、DNA修復調節機構と細胞エネルギー代謝調節因子の相互作用・ネットワークが力学的ストレス感受・応答機構として、組織の恒常性維持に重要な役割を担うことを確認した。

これらの成果から、軟骨細胞と半月板細胞において、力学的ストレスにตอบสนองしたDNA損傷修復酵素の調節機構は防御機構として働くも、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。

しかし、力学的ストレスを、軟骨細胞と半月板細胞は、各々どのように感受して応答するか、両細胞・組織には違いがあるか、さらには、力学的ストレス応答の機序と軟骨・半月板変性との関連および病的・過剰な力学的ストレスに対する防御機構の詳細については未だ解明の途上にある。

今後、力学的ストレスにตอบสนอง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、軟骨細胞と半月板由来細胞とで比較し、それぞれの力学的ストレス感受・応答

の機序をより詳しく解析し、力学的ストレスと軟骨・半月板変性との関連、さらに病的・過剰な力学的ストレスに対する応答能と防御機序を詳解して、新規治療法開発の基盤を確立する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Somemura Shu, Kumai Takanori, Yatabe Kanaka, Sasaki Chizuko, Fujiya Hiroto, Niki Hisateru, Yudoh Kazuo	4. 巻 22(16)
2. 論文標題 Physiologic Mechanical Stress Directly Induces Bone Formation by Activating Glucose Transporter 1 (Glut 1) in Osteoblasts, Inducing Signaling via NAD+-Dependent Deacetylase (Sirtuin 1) and Runt-Related Transcription Factor 2 (Runx2)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9070 ~ 9070
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22169070	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0件

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Yudoh K, Yui N, Terauchi K, Kobayashi H, Kumai T, Somemura S.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Academic Press, Elsevier inc.	5. 総ページ数 10
3. 書名 SIRTUIN BIOLOGY IN MEDICINE: Targeting new avenues of care in development, aging, and disease. CHAPTER 21: Sirtuins in bone and cartilage biology	

〔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 (Yudo Kazuo) (60272928)	聖マリアンナ医科大学・医学研究科・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
---------	---------