

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：32713

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462323

研究課題名(和文)変形性関節症における核酸修復酵素の活性・発現制御機構と軟骨変性機序との関連解析

研究課題名(英文)Role of chondrocyte DNA repair enzymes in the degeneration of articular cartilage 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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：変形性関節症の発症には、加齢に伴う軟骨マトリックスの組成変化に加えて、肥満や荷重等のメカニカルストレスに伴って誘導される炎症や酸化ストレスの蓄積が関与し、軟骨細胞のDNA損傷や軟骨基質の変性を引き起こすことが示唆されている。我々は、変形性関節症の発症の主要因と考えられる軟骨へのメカニカルストレスによって生じる過剰な活性酸素の産生と、DNA損傷および軟骨変性機序との関連について研究を進め、軟骨細胞の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)の発現変動が関節軟骨変性に関与を見出した。

研究成果の概要(英文)：Aging is one of the major pathologic factors associated with osteoarthritis (OA). It has been indicated that the NAD-dependent deacetylase sirtuin-1 (Sirt-1) has an important role in human aging. It has been suggested that Sirt-1 promotes osteogenic and chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells.

We postulated that Sirt-1 regulates a hypertrophic chondrocyte lineage and osteophyte formation through the activation of osteogenic transcription factor Runx2 in osteoarthritic chondrocytes. Our findings suggest that the NAD-dependent deacetylase Sirt-1 may upregulate the osteophyte formation and the expression of cartilage degrading enzyme MMP-13 through the mechanism involving the acceleration of the osteogenic transcription factor Runx2 in OA cartilage tissues.

研究分野：整形外科

キーワード：変形性関節症 軟骨細胞 核酸修復酵素

1. 研究開始当初の背景

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、加齢にともない運動能力は低下し、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う。

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変性機序の解明に向けて、次の研究を行った。

(1) 軟骨細胞のメカニカルストレス応答機構解明、軟骨変性との關連

(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

3. 研究の方法

ストレス応答因子(DNA損傷修復酵素)に關する以下の検討を行なった。

(i) 軟骨細胞内の活性酸素種検出とDNA酸化損傷検証

ii) DNA修復酵素活性変化、エネルギー代謝の検証

iii) DNA修復酵素欠損軟骨細胞、過剰発現細胞における細胞活性の評価

iv) OA患者関節軟骨組織におけるストレス応答因子発現度と軟骨変性度との關連

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・病態に關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・病態との關連が注目されている。

我々もこれまでに、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 (Int. J Molecular Science, 2014)。

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。これに回答して 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、研究を続けている。

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 (論文作成中)。

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 8 件)

1. Terauchi K, Kobayashi H, Yatabe K, Yui N, Fujiya H, Niki H, Musha H, Yudoh K. 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. Int. J Molecular Science. 17(7). doi: 10.3390/17071019, 2016.

2. Yoshioka H, Yui N, Fujiya H, Musha H, Niki H, Karasawa R, Yudoh K. Polyhydroxylated C60 fullerenes prevent chondrocyte catabolic activity at the concentration of nanomolar order in osteoarthritis. Journal of Osteoarthritis. 1(2), Epub 1000115, 2016.
3. Arito M, Mitsui H, Kurokawa MS, Yudoh K, Kamada T, Niki H, Kato T. Effects of soy peptides on IL-1 β -induced matrix-degrading enzymes in human articular chondrocytes. Integrative molecular medicine. 3(3), 661-665, 2016.
4. Yui N, Yoshioka H, Yudoh K, Karasawa R, Musha H. Water-Soluble C60-(OH)₂₄ fullerene hydroxide as a therapeutic agent against the degeneration of articular cartilage in osteoarthritis. Osteoarthritis and Cartilage. 23, 164-165, 2015.
5. Yudoh K, Karasawa R, Ishikawa J. Age-related decrease of sirtuin 2 protein in human peripheral blood mononuclear cells. Current Aging Science. 8(3), 256-258, 2015.
6. 油井直子, 吉岡広孝, 遊道和雄 (他 3 名, 3 番目). 関節リウマチ患者の関節症状に対する大豆ペプチド摂取の有効性評価. 応用薬理. 88, 39-46, 2015.
7. Yui N, Yoshioka H, Karasawa R, Yudoh K, (他 3 名). The DNA repair enzyme apurinic/apyrimidinic endonuclease (apex nuclease) 2 has the potential to protect against downregulation of chondrocyte activity in osteoarthritis. Int. J. Molecular Science. 15(9), 14921-14934, 2014.

8. Yoshioka H, Yui N, Fujiya H, Musha H, Beppu M, Karasawa R, Yudoh K. Water-soluble C60-(OH)₂₄ fullerene hydroxide protects against the catabolic stress-induced downregulation of chondrocyte activity in osteoarthritis. J. Nanotech and Smart Material. 1(401), 1-7, 2014.

〔学会発表〕(計7件)

1. 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. 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. 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 2016年10月(福岡).
2. 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. 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. 第31回日本整形外科学会基礎学術集会 2016年10月(福岡).
3. Yui N, Musha H, Fujiya H, Yatabe K, Yoshioka H, Terauchi k, Yudoh K. Significance of Defense Mechanism for Oxidative DNA Damage in Osteoarthritis(OA): DNA Repair Enzyme, Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease (APEX2), Protects Against the Catabolysis of Articular Cartilage in OA. 15th International Conference on ISANH Antioxidants June 2015(Paris).
4. Yui N, Yudoh K, Karasawa R, Yoshioka H, Musha H. Water-Soluble C60-(OH)₂₄ Fullerene Hydroxide as a Therapeutic Agent Against the Degeneration of Articular Cartilage in Osteoarthritis. OARSI 2015 World Congress. April 2015(Seattle).

5. Rie Karasawa, Toshiko Sato, Mayumi Tamaki, Mikiya Fujieda, Ohta Hidekazu, Kazuo Yudoh. Roles of Peroxiredoxin 2 in Patients With Kawasaki Disease. Pediatric Academic Societies Annual Meeting April 2015(San Diego).
6. Rie Karasawa, Mayumi Tamaki, Alisa Li, Kaiyu Jiang, Kazuo Yudoh, James N. Jarvis. Identification of Target Antigens for Anti-Endothelial Cell Antibodies in Patients With Juvenile Dermatomyositis Using Proteomics. Pediatric Academic Societies Annual Meeting April 2015(San Diego).
7. 遊道和雄. 関節軟骨再生医療～現在と未来～. 第5回運動器抗加齢医学研究会 2015年12月(福岡).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

遊道 和雄 (Yudoh, Kazuo)

聖マリアンナ医科大学・医学研究科・教授

研究者番号：60272928

(2) 研究分担者

唐澤 里江 (Karasawa, Rie)

聖マリアンナ医科大学・医学研究科・講師

研究者番号：50434410

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