

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670654

研究課題名(和文)DIOファミリー分子と甲状腺ホルモンシグナルによる関節軟骨制御機構の解明

研究課題名(英文)Roles of DIO family members and thyroid hormone in articular cartilage

研究代表者

山神 良太 (YAMAGAMI, Ryota)

東京大学・医学部附属病院・登録診療員

研究者番号：00722191

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)：DIO1, DIO2, DIO3, 甲状腺ホルモン受容体の発現を、関節軟骨細胞から抽出したcDNAを用いてリアルタイムRT-PCR、免疫組織染色法にて調べたところ、DIO3はやや低かったものの、他の分子は全て一定の発現を示すことが分かった。軟骨細胞の初代培養系にて、甲状腺ホルモンを投与すると細胞の増殖速度は増加し、また増殖に伴う脱分化も抑制される傾向がみられた。DIO1, DIO2の過剰発現ではこのような作用はみられなかったが、甲状腺ホルモンの投与下では相乗効果があることが分かった。

研究成果の概要(英文)：We analyzed expression patterns of DIO1, DIO2, DIO3, and thyroid hormone receptors in articular cartilage. In primary culture of articular chondrocytes, thyroid hormone promoted cell proliferation, and suppressed dedifferentiation. However, overexpression of DIO did not lead to similar results.

研究分野：整形外科学

キーワード：整形外科学 軟骨代謝学

1. 研究開始当初の背景

変形性関節症(Osteoarthritis: OA)などの運動器変性疾患は高齢者の生活の質を低下させる口コモティブシンドロームの中心的な疾患であり、その本質的な治療技術の確立は緊喫の社会的要請となっている。我々は独自に開発したマウスモデルをベースに変形性関節症を制御するシグナル群の解明に取り組み、軟骨内骨化の後期分化過程が変形性関節症の根幹をなすことを明らかにしてきたが(Nature Med 16:678,2010; Arthritis Rheum 62:826,2010; PLoS One 4:e4543, 2009; J Clin Invest 118:2506,2008; Dev Cell 14:689,2008; Nature Med 12:665,2006; Arthritis Rheum 54:2462,2006) その全貌の多くは未だ不明のままである。

近年変形性関節症患者のゲノムワイド関連解析において、ヨードサイロニン脱ヨウ素酵素(DIO)の1~3までのアイソフォームのうち、DIO2 遺伝子とDIO3 遺伝子の多型が変形性関節症に関係するという報告が相次ぎ、世界的に注目を集めている(Human Molecular Genetics 17:1867,2008、Ann Rheum Dis 70:164,2011)。DIOファミリーは甲状腺ホルモンの活性調節を担っており、DIO1,2 は甲状腺ホルモン前駆体サイロキシン(T4)をより生物活性の強いトリヨードサイロニン(T3)に変換する酵素であり、DIO3 はT4 を生物活性のないrT3に変換する酵素である。甲状腺から分泌されて血中を循環するホルモンはほとんどがT4 であることから、DIO1,2 は甲状腺ホルモンの標的組織・細胞においてT4 をT3に変換してその作用を引き出す役割があり、DIO3 はそれを負に制御する役割があると考えられている。甲状腺ホルモンは骨格成長期における軟骨分化に重要であることは知られているが、成人以降の関節軟骨における作用はこれまで知られておらず、DIOファミリーが変形性関節症の発症にどのような関わりを持つかも全く分かっていない。

2. 研究の目的

我々はこれまでの基礎検討で、DIO2 が成長板軟骨に発現しているのみならず、変形性関節症軟骨においても発現していることを確認した。本研究はDIOファミリー分子を起点に軟骨細胞における甲状腺ホルモンシグナルを詳細に解析し、軟骨細胞の新規制御機構を解明する計画である。

3. 研究の方法

本研究ではDIOファミリーの軟骨における発現と機能を解析するとともに、甲状腺シグナルの標的遺伝子群を探索し、その制御機構の解明に挑む。具体的には以下のサブテーマに分けて検討を行った。

1) DIOファミリーと甲状腺ホルモン受容体の関節軟骨における発現パターン解析

2) DIOファミリーの軟骨細胞を用いた in

vitro 機能解析

4. 研究成果

DIO1, DIO2, DIO3、甲状腺ホルモン受容体の発現を、関節軟骨細胞から抽出したcDNAを用いてリアルタイムRT-PCR、免疫組織染色法にて調べたところ、DIO3 はやや低かったものの、DIO1, DIO2、甲状腺ホルモン受容体は全て一定の発現を示すことが分かったが、DIO3 の発現は低かった。軟骨細胞の初代培養系に様々な濃度で甲状腺ホルモンを投与すると、ある濃度までは容量依存的に細胞の増殖速度は増加した。一般的に軟骨細胞は増殖に伴って脱分化することが知られているが、甲状腺ホルモンの添加によってこの脱分化は抑制される傾向がみられた。DIO1, DIO2 の過剰発現ではこのような作用はみられなかったが、甲状腺ホルモンの投与下では一定の相乗効果があることが分かった。DIO1, DIO2 の抑制系については、siRNA の安定発現細胞を樹立することを試みたが、両者を同時に十分抑制することができなかった。

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 16 件)

1. A modified technique to reduce tibial keel cutting errors during an Oxford unicompartmental knee arthroplasty. Inui H, Taketomi S, Tahara K, Yamagami R, Sanada T, Tanaka S. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2016 May 2. [Epub ahead of print]
2. Impingement of the Mobile Bearing on the Lateral Wall of the Tibial Tray in Unicompartmental Knee Arthroplasty. Inui H, Taketomi S, Yamagami R, Sanada T, Shirakawa N, Tanaka S. J Arthroplasty. 2016 Feb 27. pii: S0883-5403(16)00014-0. doi: 10.1016/j.arth.2015.12.047. [Epub ahead of print]
3. Myositis ossificans after navigated knee surgery: A report of two cases and literature review. Yamagami R, Taketomi S, Inui H, Sanada T, Nakagawa T, Tanaka S. Knee. 2016 Mar 15. pii: S0968-0160(15)00291-4. doi: 10.1016/j.knee.2015.11.023. [Epub ahead of print]
4. Secure fixation of femoral bone plug with a suspensory button in anatomical anterior cruciate ligament reconstruction with bone-patellar tendon-bone graft. Taketomi S, Inui H, Nakamura K, Yamagami R, Tahara K, Sanada T, Masuda H, Tanaka S, Nakagawa

- T. Joints. 2016 Jan 28;3(3):102-8. doi: 10.11138/jts/2015.3.3.102. eCollection 2015 Jul-Sep.
5. Twice cutting method reduces tibial cutting error in unicompartmental knee arthroplasty. Inui H, Taketomi S, Yamagami R, Sanada T, Tanaka S. *Knee*. 2016 Jan;23(1):173-6. doi: 10.1016/j.knee.2014.11.015. Epub 2014 Dec 7.
 6. Remnant-preserving anterior cruciate ligament reconstruction using a three-dimensional fluoroscopic navigation system. Taketomi S, Inui H, Sanada T, Nakamura K, Yamagami R, Masuda H, Tanaka S, Nakagawa T. *Knee Surg Relat Res*. 2014 Sep;26(3):168-76. doi: 10.5792/ksrr.2014.26.3.168. Epub 2014 Aug 29.
 7. Eccentric femoral tunnel widening in anatomic anterior cruciate ligament reconstruction. Taketomi S, Inui H, Sanada T, Yamagami R, Tanaka S, Nakagawa T. *Arthroscopy*. 2014 Jun;30(6):701-9. doi: 10.1016/j.arthro.2014.02.016. Epub 2014 Mar 27.
 8. Grey-scale sonography and sonoelastography for diagnosing carpal tunnel syndrome. Miyamoto H, Morizaki Y, Kashiya T, Tanaka S. *World J Radiol*. 2016 Mar 28;8(3):281-7. doi: 10.4329/wjr.v8.i3.281.
 9. Prevalence of hand osteoarthritis and its relationship to hand pain and grip strength in Japan: The third survey of the ROAD study. Kodama R, Muraki S, Oka H, Iidaka T, Teraguchi M, Kagotani R, Asai Y, Yoshida M, Morizaki Y, Tanaka S, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T, Yoshimura N. *Mod Rheumatol*. 2016 Feb 16:1-7. [Epub ahead of print]
 10. Supermicrosurgical free sensate intercostal artery perforator flap based on the lateral cutaneous branch for plantar reconstruction. Iida T, Narushima M, Hara H, Yamamoto T, Yoshimatsu H, Morizaki Y, Uehara K, Koshima I. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2014 Jul;67(7):995-7. doi: 10.1016/j.bjps.2014.01.001. Epub 2014 Jan 16.
 11. Comparative study on the stiffness of transverse carpal ligament between normal subjects and carpal tunnel syndrome patients. Miyamoto H, Miura T, Morizaki Y, Uehara K, Ohe T, Tanaka S. *Hand Surg*. 2013;18(2):209-14. doi: 10.1142/S0218810413500251.
 12. Ultrasonographic evaluation of displaced neurovascular bundle in Dupuytren disease. Uehara K, Miura T, Morizaki Y, Miyamoto H, Ohe T, Tanaka S. *J Hand Surg Am*. 2013 Jan;38(1):23-8. doi: 10.1016/j.jhssa.2012.09.013. Epub 2012 Dec 4.
 13. Concurrent spinal schwannoma and meningioma mimicking a single cervical dumbbell-shaped tumor: case report. Oichi T, Chikuda H, Morikawa T, Mori H, Kitamura D, Higuchi J, Taniguchi Y, Matsubayashi Y, Oshima Y, Tanaka S. *J Neurosurg Spine*. 2015 Dec;23(6):784-7. doi: 10.3171/2015.3.SPINE141315. Epub 2015 Aug 28.
 14. A novel mutation of TGFBR2 causing Loays-Dietz syndrome complicated with pregnancy-related fatal cervical arterial dissections. Fujita D, Takeda N, Morita H, Kato M, Nishimura H, Inuzuka R, Taniguchi Y, Nawata K, Hyodo H, Imai Y, Hirata Y, Komuro I. *Int J Cardiol*. 2015 Dec 15;201:288-90. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.07.109.
 15. Congenital Contractural Arachnodactyly without FBN1 or FBN2 Gene Mutations Complicated by Dilated Cardiomyopathy. Yagi H, Hatano M, Takeda N, Harada S, Suzuki Y, Taniguchi Y, Shintani Y, Morita H, Kanamori N, Aoyama T, Watanabe M, Manabe I, Akazawa H, Kinugawa K, Komuro I. *Intern Med*. 2015;54(10):1237-41. doi: 10.2169/internalmedicine.54.4280.
 16. Transcription factor Hes1 modulates osteoarthritis development in cooperation with calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2. Sugita S, Hosaka Y, Okada K, Mori D, Yano F, Kobayashi H, Taniguchi Y, Mori Y, Okuma T, Chang SH, Kawata M, Taketomi S, Chikuda H, Akiyama H, Kageyama R, Chung UI, Tanaka S, Kawaguchi H, Ohba S, Saito T. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Mar 10;112(10):3080-5. doi: 10.1073/pnas.1419699112.

全て査読あり

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山神良太 (YAMAGAMI, Ryota)
東京大学・医学部附属病院・登録診療員
研究者番号：00722191

(2) 研究分担者

森崎裕 (MORIZAKI, Yutaka)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30508099

谷口優樹 (TANIGUCHI, Yuki)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：80722165

(3) 連携研究者

()

研究者番号：