

主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

寺内 昂

専攻分野：スポーツ医学

コース：

指導教授：武者 春樹

主論文の題目：

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.

(変形性関節症の軟骨細胞において NAD 依存性脱アセチル化酵素 Sirtuin1 は骨形成転写因子 Runx2 の発現とマトリックスメタプロテアーゼ MMP-13 産生を調節する)

共著者：

Hajime Kobayashi, Kanaka Yatabe, Naoko Yui, Hiroto Fujiya, Hisateru Niki, Haruki Musha, Kazuo Yudoh

緒言

変形性関節症 (osteoarthritis:OA) は、関節軟骨の変性と骨棘等の骨の新生増殖に基づく進行性の関節変性疾患であり、その病理的要因として加齢は重要な要素である。近年、NAD 依存性脱アセチル化酵素 sirtuin-1 (Sirt1) は、加齢によって起こる様々な細胞ストレスに対して抑制的に働くことがわかってきた。われわれは、血管内皮細胞において Sirt1 機能の抑制が、骨形成転写因子 runt-related transcription factor 2 (Runx2) の発現を誘導し、血管の石灰化に関与するという報告に着目し、軟骨細胞においても Sirt1 が Runx2 の発現、さらには Runx2 が promotor として働く軟骨基質分解酵素 matrix metalloproteinase

(MMP)-13 産生を調節するとの仮説をたて、OA 病因病態の解明に向けて軟骨細胞における Sirt1、Runx2 および MMP-13 の発現の相関を検討した。

方法・対象

Informed consent を得た後、人工膝関節置換術施行時に採取した変性軟骨組織から樹立した軟骨細胞に対し、軟骨異化誘導因子の interleukin (IL)-1 β (10.0 ng/ml) 存在下、非存在下に 24 時間培養後、Runx2、MMP-13、Sirt1 の発現度を解析した。さらに、Sirt1 阻害剤 (1.0 μ M) により軟骨細胞の Sirt1 活性を抑制した条件下で MMP-13、Runx2 の発現を解析した。また、聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター診断治療法開発・創薬部門が外部委託して作製した OA 自然発症モデルマウス (STR/OrtCrlj mouse) の膝関節組織スライド切片の供与を受けて、軟骨細胞における Runx2 と Sirt1 の発現度を免疫組織学的に解析した。本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会の承認 (承認番号 1315 号) を得ておこなった。統計学的解析には Student' s t 検定を用い、有意水準を $p < 0.05$ とした。

結果

Western Blot の解析結果から、変性軟骨細胞には一様に Sirt1 の発現が確認され、かつ Runx2 発現は X 線学的に骨棘形成度の高い変性軟骨組織由来の軟骨細胞で高い傾向にあった。OA モデルマウスにおいて Runx2 は骨棘形成部と一致して発現していた。IL-1 β 刺激により変性軟骨細胞の MMP-13 産生能は有意に増強された ($p < 0.05$)。Sirt1 阻害剤を前投与した軟骨細胞において、Runx2 の発現が抑制される傾向にあったが、MMP-13 産生能については有意差はなかった。

考察

Sirt1 は細胞内蛋白の様々な機能に関与し、組織・臓器の細胞活性変

化および生体応答に影響すること、ならびに生体の加齢性変化に拮抗することが報告されてきた。軟骨細胞の退行性変化をきたす OA についても同様であり、Sirt1 が OA 進行を抑制するという報告が多い。しかし、骨棘形成に基づく関節変形と軟骨細胞の肥大化に関与する Runx2 と Sirt1 との関連については十分な検討がなされてこなかった。われわれは、軟骨細胞において Sirt1 機能の低下は Runx2 の発現に促進的に働いて骨棘形成を進行させ、かつ、MMP-13 の産生も増強させて軟骨基質の変性破壊を誘導すると仮説して実験を行った。しかし、OA 軟骨細胞において Sirt1 機能を阻害すると、Runx2 の発現が減少する傾向にあった。OA 軟骨細胞における Runx2 の発現が MMP-13 産生能を高めることは一般的に広く知られており、Sirt1 機能の活性化が Runx2 発現、ひいては MMP-13 産生に促進的である可能性が示唆された。

Sirt1 は生体内に一様に存在し、多くの細胞内代謝に関与していることに加えて、酸化や炎症などの細胞ストレスに影響を受けることが知られている。OA 軟骨細胞においても、病態に関連する様々なストレスが Sirt1 機能に多様な変化をもたらし、細胞活性および細胞環境の変化を誘導すると考えた。

結論

変性軟骨由来の軟骨細胞に Sirt1 の発現が確認されたが、Sirt1 阻害剤による機能抑制により Runx2 発現ならびに MMP-13 産生は抑制されることが示唆された。血管内皮細胞においては Sirt1 の Runx2 の発現抑制効果が報告されているが、関節軟骨では Sirt1 が Runx2 発現に促進的に働く可能性が示唆された。今後 Sirt1 の軟骨細胞における役割を明らかにするために、さらに OA in vitro および in vivo モデルによる詳細な解析が必要であると考えられる。