

平成 29 年 3 月 31 日

1. 申請者

- 1) 氏名 久永 哲(ひさなが さとし)
- 2) 所属 熊本大学大学院生命科学研究部 整形外科学分野
- 3) 身分 大学院 4 年生特別研究学生(徳島大学)

2. 申請項目

熊本地震支援 C

3. 研究題目

小胞体ストレス応答による軟骨機能制御

4. 申請内容

目的

請者が所属する熊本大学整形外科学分野は、徳島大学疾患プロテオゲノム研究センターの親泊教授との共同で、変形性関節症発症における小胞体ストレスの関与について研究を行ってきた。過剰な小胞体ストレスは病態形成に働くが、生理的で弱い小胞体ストレスは軟骨機能に必要なのではないかと仮説をたて、現在小胞体ストレス応答シグナルによる軟骨機能制御について研究を行った。

方法

軟骨細胞へ分化誘導することができる ATDC5 細胞において、分化過程における小胞体ストレス応答経路の活性化について検討する。さらに小胞体ストレス応答の3つの経路を活性化あるいは不活性化した細胞株を作製して、軟骨細胞分化への影響を検討する。さらに小胞体ストレス応答の活性化剤として見出された化合物によって軟骨細胞分化が促進されるかどうかを検討し、新たな治療薬としての可能性についても探る。

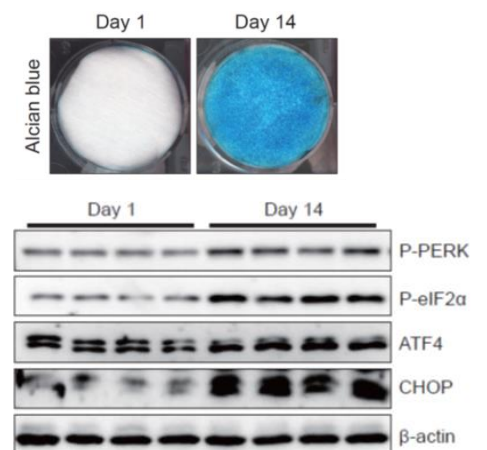
結果

小胞体ストレス応答シグナルによる軟骨機能制御について新たな知見を得られるだけでなく、変形性関節症など軟骨機能の回復が求められる疾患への治療法開発にも繋がる可能性がある。

1) 軟骨細胞の分化の過程で小胞体ストレス応答が活性化している

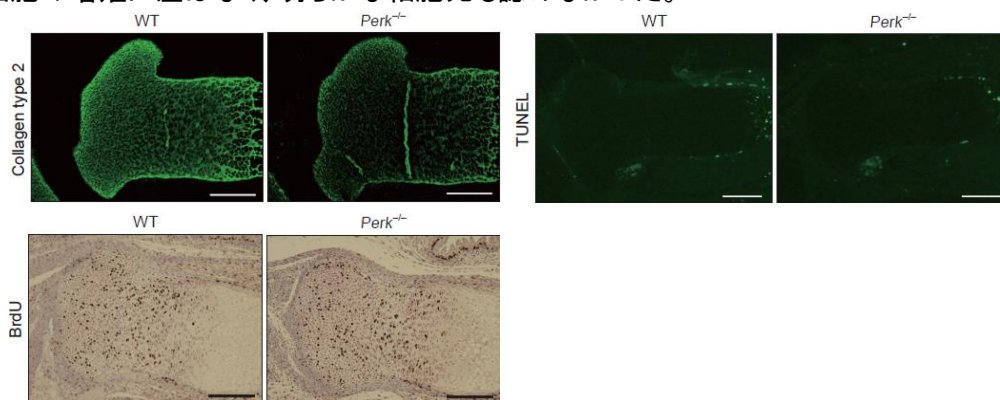
インスリンの投与で軟骨細胞への分化を誘導した ATDC5 細胞の小胞体ストレス応答経路の活性を Western blotting で確認したところ、小胞体ストレスセンサーである PERK により誘導される Phosphorylated-eIF2 α ATF4 と CHOP の発現増加を認めた。

ATDC5 細胞では分化の過程で小胞体ストレスが生じており、PERK/eIF2 α 経路の活性化がおきていることが確認された。



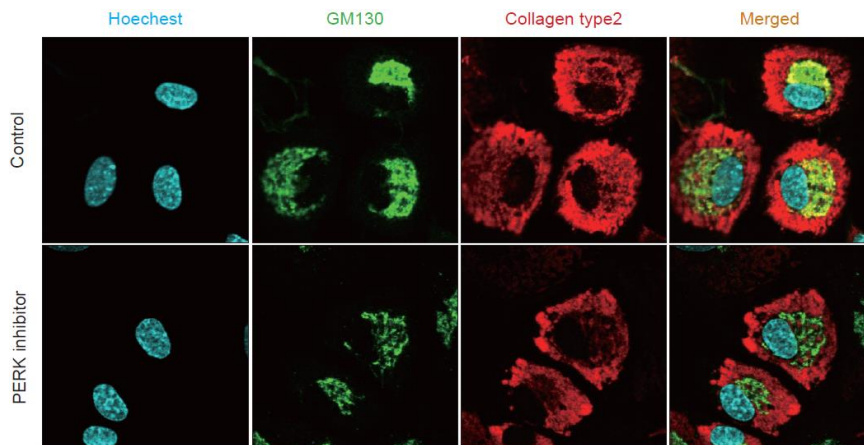
2) PERK^{-/-} mouse では Collagen type 2 の分泌が低下している

分化の過程で生じた小胞体ストレスが及ぼす影響を検討するために、PERK^{-/-} mouse の関節軟骨の解析を行った。PERK^{-/-} mouse では Collagen type 2 (COL2A)の発現低下を認める一方、増殖軟骨層での軟骨細胞の増殖に差はなく、明らかな細胞死も認めなかった。



3) PERK 機能低下により、小胞体からゴルジ体への輸送が障害される

COL2A の分泌が低下している原因を検討するために、高選択的な PERK 阻害薬である GSK2606414 を軟骨細胞に投与した後に、小胞体からゴルジ体への COL2A の移行を確認した。Control では小胞体に局在していた COL2A が経時的にゴルジ体へ移行していく様子が観察されたのに対し、GSK2606414 を投与した軟骨細胞では小胞体からゴルジ体への COL2A の移行が阻害されていることが確認された。



結 語

軟骨細胞と同様に多量の分泌タンパクを生産する膵β細胞や骨芽細胞では PERK の機能低下により、細胞外に分泌されるタンパクが減少することが報告されている。今回我々は軟骨細胞においても適切な細胞外への COL2A の分泌に、PERK の活性化が重要な役割を果たしていることを新たに見出した。我々は以前の研究で、変形性関節症に至る過程で関節軟骨に小胞体ストレスが生じてことを見出している。軟骨細胞は PERK を活性化させ軟骨細胞機能の維持を行っている一方、変形性関節症では過剰な小胞体ストレスが加わることで、関節軟骨変性の重篤化をきたしていると考えている。

今回報告した内容は、現在投稿準備中である。