

研究題目

CRISPR ライブラリーを用いた変形性関節症の原因遺伝子の網羅的解析

研究組織

研究代表者：久永 哲（熊本大学病院 整形外科）
 共同研究者：親泊 政一（徳島大学先端酵素学研究所）
 研究分担者：河上 純輝（熊本大学病院 整形外科）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

変形性関節症(OA)は、高齢者の健康寿命の延伸を妨げる代表的な運動器疾患であり、日本では 800 万人の患者がいるといわれている。急速に高齢化が進む我が国では軟骨破壊の進行を抑制する治療法の開発が急務であるが、OA の病態は依然として不明な点が多い。OA 患者より採取した関節軟骨における発現遺伝子の網羅的解析を行い、なおかつ CRISPR library の解析を加えることで、小胞体ストレスを介した OA の原因遺伝子を同定し、小胞体ストレス応答を標的とした軟骨変性に対する新規治療法開発の可能性を検討することを今回の研究の目的とした。

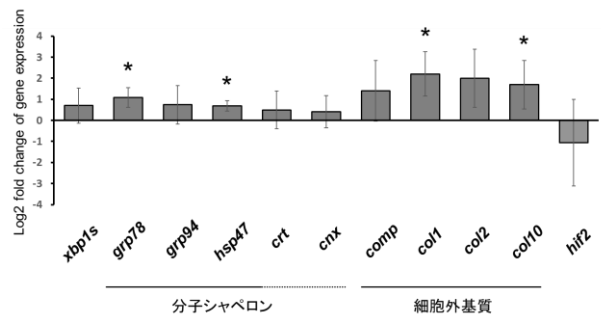
[1-2] 研究の方法・経過

人工膝関節置換術後の患者の関節軟骨を採取し、RNA 抽出した後に PCR にて遺伝子発現解析を行う。

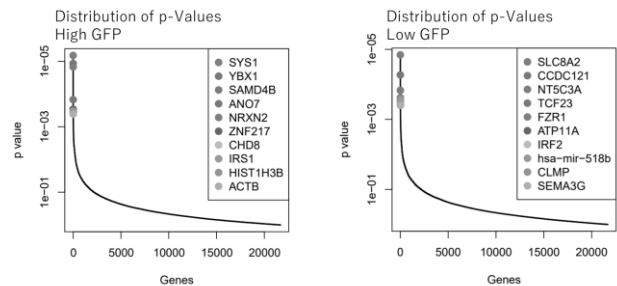
また Xbp1 が結合する配列(UPRE 配列)に GFP および Cas9 を挿入したレンチウイルスベクターおよびを作成し、ヒト軟骨細胞株に遺伝子導入を行い、小胞体ストレスを感知する細胞を作成する。その後 CRISPR sgRNA ライブラリーを作成し、DNA 変異の導入を行う。その後 GFP 発現量にて細胞のソーティングを行い、ゲノム DNA を抽出し、次世代シーケンサーでゲノム情報を取得し、小胞体ストレスに影響を及ぼす遺伝子のリスト化を行う。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果



OA 患者の関節軟骨では、細胞外基質の発現が上昇していることに加えて、分子シャペロンの発現の上昇がみられた。



また CRISPR sgRNA ライブラリーにおいても、軟骨細胞での小胞体ストレスを惹起しうる新規遺伝子が複数確認できた。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

現在上記のデータに加えて、関節軟骨の軟骨細胞での RNA-seq を実施しており、軟骨変性の原因となりえる遺伝子の同定を行っている。今後の研究の発展によっては新規に OA 発症および進行のメカニズムの解明および新規治療薬の開発につながる可能性がある。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】 今後の課題等

今後の課題、その他等

今後、徳島大学酵素学研究所で学んだ CRISPR sgRNA ライブラリーの技術を熊本大学でも行えるように設備・備品の確認を行い、実施する予定である。

、