

## 論文の内容の要旨

論文題目 TACEによる変形性関節症の病態制御機構

氏名 金子 泰三

変形性関節症は関節軟骨の変性によって引き起こされる最も一般的な関節疾患であり、加齢、遺伝的要因、ライフスタイル、肥満、関節不安定性、外傷などの様々な要因が関与する多因子疾患である。昨今の超高齢化社会における変形性関節症を原因とする諸所の弊害を考慮すると、その病態解明と新規治療法の確立は我々整形外科医に課せられた使命であると言える。

これまでのマウス変形性関節症モデルを用いた分子生物学的研究により、関節軟骨の分解を引き起こす種々のシグナル伝達経路が報告されている。TNF、IL-6などの炎症性誘発性サイトカインは滑膜細胞と軟骨細胞から産生され、関節軟骨に異化作用を及ぼす。これらの炎症関連経路に加え、NotchシグナルやEGFRシグナル伝達は、種々の細胞の発生、分化、増殖に関連するシグナル伝達経路であり、変形性関節症の病因に関与する重要なシグナル伝達経路である。

今回、我々はアダムファミリーに属する膜型の蛋白質分解酵素であるTNF alpha converting enzyme (Tace) に着目した。Taceは、その名前の由来ともなっているTNFの膜結合前駆体をシェディングする酵素として同定された。シェディングとは膜蛋白質がその細胞膜貫通領域の近傍部位にて蛋白質分解酵素の作用をうけることで、その細胞外領域が切断され、可溶化、放出される現象のことである。近年の研究で、シェディングは単に膜蛋白質の分解の一過程ではなく、緻密な制御による転写後調整機構の1つとして、その重要性が注目されている。TaceはTNFのみならず、様々な分子に対してシェディングを行うことが明らかとなり、その基質には前述の軟骨変性関連シグナルに関与するTNF、IL-6受容体、Notch受容体、EGFRリガンドも含まれている。これらの軟骨変性に関与するシグナル伝達ならびに分子との間の相互作用を考慮すると、Taceは軟骨変性の病因病態と深く関連している可能性が高いことが予想される。しかしながら、関節軟骨におけるTaceの発現ならびに軟骨変性の病態への寄与に関する分子生物学的知見に関してはほとんど存在しない。

本研究ではまず、膝関節組織におけるTaceの発現ならびに軟骨変性の進行における発現解析を行った。次に時期特異的かつ軟骨細胞特異的にTaceをノックアウトできるCol2a1-Cre<sup>ERT2</sup>;Tace<sup>fl/fl</sup>マウスを用いて、3種類の異なる実験的マウス変形性関節症モデルを作成し、軟骨変性におけるTaceの働きを解析した。In vitroでは、Taceの関節軟骨に対する作用を、マウス初代軟骨細胞、大腿骨頭を用いたloss of function、gain of functionの系で解析した。さらにELISA, Westernブロットを用いて、Tace下流シグナルの関連性を評価した。最後に変形性関節症新規治療薬の可能性を考慮し、実験的マウス変形性関節症モデルへのTace阻害薬の膝関節内投与による治療効果を検討した。

結果、Taceは軟骨変性の進行とともに関節軟骨における発現が増加した。時期特異的かつ軟骨特異的Taceノックアウトマウスは3種類の異なる実験的マウス変形性関節症モデルにおいて、軟骨変性の進行を抑制し、軟骨細胞のアポトーシスを抑制した。マウス軟骨細胞やマウス大腿骨頭でTaceのシェディング活性を上げると、異化因子であるMmp13が増加し、軟骨基質であるCol2a1、Acanが減少した。またマウス大腿骨頭から培養液中へのアグリカン放出が増加した。Western blotやELISAによる解析により、関節軟骨におけるTaceの下流シグナルとして、TNFシグナルおよびEGFRシグナルとの関与が強く示唆された。Tace阻害薬の関節内投与は、変形性関節症の進行を抑制し、軟骨細胞のアポトーシスを抑制した。またTaceのシェディング活性を上げたマウス大腿骨頭において、Tace阻害薬の投与により、Taceの関節軟骨に対する異化作用が抑制された。

以上より、本研究は、TaceがTNFシグナルやEGFRシグナルといった変形性関節症関連シグナルを介して、変形性関節症を促進的に制御することを明らかにした。