



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

| | |
|-----------------------------|---|
| Title | Alterations in the chondroitin sulfate chain in human osteoarthritic cartilage of the knee(要約版(Digest)) |
| Author(s) | 石丸, 大地 |
| Report No.(Doctoral Degree) | 博士(医学) 甲第975号 |
| Issue Date | 2015-03-25 |
| Type | 博士論文 |
| Version | none |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/51049 |

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

甲第 975 号

氏名: 石丸大地
Full Name Daichi Ishimaru

学位論文題目: 末期変形性膝関節症における関節軟骨内コンドロイチン硫酸鎖の構造変化
Thesis Title Alterations in the chondroitin sulfate chain in human osteoarthritic cartilage of the knee

学位論文要約:
Summary of Thesis

変形性関節症 (osteoarthritis: 以下 OA) は関節軟骨の破綻を主体とする疾患である。コンドロイチン硫酸 (chondroitin sulfate: 以下 CS) は関節軟骨の主要構成成分であるアグリカンの構成成分であり、ほ乳類では、以下の 6 つの CS 合成酵素が同定されている: chondroitin sulfate synthase 1 (CSS1), chondroitin polymerizing factor (CHPF), chondroitin sulfate synthase 3 (CSS3), chondroitin polymerizing factor 2 (CHPF2), chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 1 (CSGALNACT1), chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (CS-GALNACT2)。これらの酵素が細胞内のゴルジ体内で協調的に作用することで CS が合成されるが、これまでに、OA 軟骨での CS の分子量、含有量、硫酸化といった CS の構造変化、CS の合成の変化についてはほとんど知られていない。本研究の目的は、ヒト膝関節軟骨において CS の構造変化が、軟骨変性や膝関節の変形と関連しているかどうか、変性軟骨での CS 合成について検討する事である。

【対象と方法】

対象は人工膝関節置換術を受けた末期 OA 膝 24 膝 (Kellgren/Lawrence 分類 Stage III もしくは IV)。手術時に大腿骨内側・外側顆部の荷重部からそれぞれ関節軟骨を採取し、肉眼的に変性がより強い軟骨を lesion cartilage, 対側顆部の軟骨を remote cartilage と設定した。

- 1) 軟骨変性の程度について、採取した軟骨を Safranin O/Fast Green 染色後、modified Mankin score を用いて評価し、lesion cartilage と remote cartilage の間で paired *t*-test を用いて比較した。
- 2) 採取軟骨から CS を抽出し、CS 含有量・CS 分画について HPLC を用いて、CS 分子量についてゲルろ過クロマトグラフィーを用いて測定し、lesion cartilage と remote cartilage の間で paired *t*-test を用いて比較した。
- 3) 採取軟骨から mRNA を抽出し、CS 合成酵素遺伝子発現に関してリアルタイム RT-PCR 法を用いて測定し、lesion cartilage と remote cartilage の間で paired *t*-test を用いて比較した。
- 4) 膝関節の変形の程度は、膝関節立位正面レントゲン写真を用いて大腿脛骨角 (femorotibial angle: 以下 FTA) を測定し、FTA と CS 分子量・CS 含有量の相関を Pearson の積率相関係数を用いて評価した。加えて年齢と CS 分子量・CS 含有量の相関を Pearson の積率相関係数を用いて評価した。

【結果】

- 1) modified Mankin score の結果から、lesion cartilage が remote cartilage よりも変性が強度であった。(6.92±3.22 vs 4.42±2.36, $P < 0.05$)。
- 2) lesion cartilage で、平均 CS 含有量と分子量が remote cartilage よりも低値であった (平均 CS 含有量: 12.04±5.20 vs 14.84±4.86 μg/mg wet weight, $P < 0.01$, 平均 CS 分子量: 5.36±1.46 vs 6.19±1.84 kDa, $P < 0.05$)。CS 分画は 2 部位間で明らかな差は認めなかった。

- 3) lesion cartilage で、6 つの CS 合成酵素遺伝子のうち *CHPF*, *CSGALNACT1*, *CSGALNACT2* の発現が有意に低下していた。
- 4) CS 構造と年齢との相関関係に関して、CS 分子量は年齢と負の相関を示し、高齢であるほど CS 分子量が低下することが示唆された。
- 5) CS 構造と膝関節変形の相関関係に関して、大腿骨内側顆部において、CS 分子量と FTA は負の相関を示し、膝の内反変形が強いほど大腿骨内側顆部では CS 分子量が低下することが示唆された。

【考察】

本研究で、変性が進行した膝関節軟骨では、CS 含有量、分子量が低下し、更に、CS 合成酵素遺伝子の発現が低下していた。以前の *in vivo* study で、*Csgalnact1*-null mice が関節軟骨低形成、軟骨内アグリカン総量の低下、アグリカンの異化亢進を呈し、CS が軟骨代謝に寄与していると報告されている。本研究の結果は、関節軟骨内の CS の構造変化が、軟骨異化を亢進させ変形性関節症を進行させている可能性を示唆しており、関節軟骨での CS 合成酵素の調節や、CS 構造を維持させることにより軟骨変性を予防し得ると考えられる。

【結論】

変性が進行した膝関節軟骨では、CS 含有量、分子量が低下し、更に、CS 合成酵素遺伝子の発現が低下していた。

Osteoarthritis and Cartilage 22, 250-258 (2014).