

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	清 水 英 徳
主 論 文 題 名				
<p>Hyaluronan-Binding Protein Involved in Hyaluronan Depolymerization Is Up-Regulated and Involved in Hyaluronan Degradation in Human Osteoarthritic Cartilage (HYBIDは変形性関節症関節軟骨で過剰発現し、ヒアルロン酸分解に関わる)</p>				
(内容の要旨)				
<p>Hyaluronan-binding protein involved in hyaluronan depolymerization (HYBID) は、先天性難聴の原因遺伝子の一つとして報告された遺伝子であるが、近年、皮膚線維芽細胞や滑膜線維芽細胞でのヒアルロン酸分解に重要な役割を果たすことが明らかにされた。ヒアルロン酸は関節軟骨の主要細胞外マトリックス構成成分であり、変形性関節症 (Osteoarthritis : OA) 関節軟骨では早期より分解・消失するが、OA関節軟骨でのHYBIDでの発現や機能に関しては不明であった。そこで、本研究では、OA関節軟骨組織におけるHYBIDの発現、ヒアルロン酸分解への関与、遺伝子発現調節因子について検討した。ヒトOA関節軟骨組織と正常関節軟骨組織を用いて、HYBIDの発現を免疫組織学的に調べた結果、HYBIDは正常関節軟骨ではほとんど発現せず、OA関節軟骨のヒアルロン酸消失部位に位置する軟骨細胞で強く発現していた。関節軟骨におけるHYBIDの免疫染色陽性細胞率は関節軟骨破壊を示すMankinスコアと正の相関を示した。イムノブロットでは、HYBIDタンパク質発現がOA関節軟骨組織で確認された。リアルタイムPCRによる解析で、HYBIDの発現はOA関節軟骨組織において正常関節軟骨組織より約4倍高値を示した。一方、従来よりヒアルロン酸分解に関わるとされてきたHyaluronidase-1 (HYAL-1)、Hyaluronidase-2 (HYAL-2)、CD44も有意な発現上昇を認めた。そこで、培養OA関節軟骨細胞におけるこれら遺伝子をsiRNAでノックダウンしてヒアルロン酸分解活性を検討した。その結果、HYBIDのノックダウンでのみヒアルロン酸分解活性が完全に消失した。OA関節軟骨細胞でのHYBIDとクラスリン重鎖タンパク質を二重免疫染色で調べたところ、皮膚線維芽細胞と同様に、HYBIDは関節軟骨細胞のクラスリン被覆小胞に局在した。また、投与された高分子ヒアルロン酸はOA関節軟骨細胞のクラスリン被覆小胞に取り込まれて分解されることが示された。OA関節軟骨組織におけるHYBIDの誘導因子を調べるために、OA関節組織で産生が知られている8種類のサイトカインや増殖因子でOA関節軟骨細胞を刺激した。その結果、tumor necrosis factor-α (TNF-α) のみがHYBIDの発現を亢進し、ヒアルロン酸分解活性の上昇を示した。</p> <p>以上の結果より、OA関節軟骨細胞においてHYBID遺伝子発現が亢進しており、HYBIDはOA関節軟骨組織でのヒアルロン酸分解・消失に関わる可能性が示された。また、OA関節軟骨細胞におけるHYBIDの発現は、TNF-αによって促進することから、TNF-αを標的とした生物学的製剤はHYBID発現抑制を通してOA関節軟骨破壊抑制に有用な作用をもつ可能性が示唆された。</p>				