

論文審査の要旨

報告番号	総論第 20 号	学位申請者	嶋田 博文
審査委員	主査	谷本 昭英	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	古川 龍彦	副査 堀内 正久
	副査	石塚 賢治	副査 岸田 昭世

Senescence of chondrocytes in aging articular cartilage: GADD45 β mediates p21 expression in association with C/EBP β in senescence-accelerated mice

(加齢関節軟骨における軟骨細胞老化の研究

—老化促進マウスにおいて GADD45 β は C/EBP β と協調して p21 発現を調節する—)

変形性関節症(以下 OA)の発生は、異常なメカニカルストレスや加齢・炎症による変性と、軟骨が本来持っている修復機能とのバランスが崩れることにより起こると考えられている。学位申請者らのグループは従来 DNA 障害性ストレスに対し発現が亢進する Growth arrest and DNA damaged inducible 45 beta (GADD45 β)に着目し、先行研究においてこの分子が転写因子 CCAAT/enhancer binding protein β (C/EBP β)と協調して肥大軟骨細胞のマーカーである、*Matrix metalloproteinase-13* (MMP-13)や *Type X collagen a 1* (Col10a1)を制御することを報告した。さらに最近、細胞老化の分子マーカーである p21 が C/EBP β の下流ターゲットとして同定された。そこで学位申請者らは、GADD45 β と C/EBP β の相互作用による老化関連タンパク p21 の制御が、関節軟骨の加齢メカニズムに関与しているのではないかと仮説を立て、25 週齢及び 58 週齢の老化促進マウス (Senescence-accelerated mice : SAM) と、比較対象として Institute of Cancer Research mouse (ICRM)を 5 匹ずつ用い、膝関節軟骨の免疫染色で上記分子の発現を検討した。さらにマウス奇形腫由来の ATDC5 細胞を用い、p21 の promoter を含むルシフェラーゼレポーター遺伝子を transfection し、GADD45 β と C/EBP β の効果をレポーターアッセイで検討した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた

1. 両マウスとも 25 週齢及び 58 週齢では OA 変化は認めなかった。老化マーカー β -galactosidase の発現は、SAM の方が ICRM よりも亢進していた。
2. SAM 加齢関節軟骨の辺縁部では、ICRM と比較し有意に GADD45 β 陽性の軟骨細胞数が増加していた。
3. SAM の関節辺縁部において、比較的表層部に規則的に GADD45 β 陽性の軟骨細胞や C/EBP β 陽性の軟骨細胞を認め、二重染色では、両者の発現が陽性の細胞も多数認められた。強拡大で見ると、C/EBP β は核内に発現している一方、GADD45 β は核内と核周囲に発現していた。
4. ATDC5 細胞を用いた P21 promoter のレポーターアッセイを施行し、C/EBP β と GADD45 β が協調的に p21 遺伝子の転写活性を亢進させることを見出した。SAM 関節辺縁部では、比較的表層部の軟骨細胞に規則的に GADD45 β と C/EBP β 同様に、p21 が一致して発現していた。

以上のように本論文は、関節軟骨細胞老化の過程において、加齢関節軟骨の部位により、C/EBP β と GADD45 β が共発現し、それらの発現量の変化を明らかにしたことから、この 2 つの分子がメカニカルストレスと軟骨老化に関与する可能性を示した。さらに関節軟骨老化のメカニズムにおいて、C/EBP β と GADD45 β が協調して p21 の発現を制御し、軟骨老化に関与している可能性を示唆した。

よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。