

NF- κ B シグナルは軟骨細胞を両面的に制御する

1. 発表者： 齋藤 琢（東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻 整形外科学
／東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科 講師）

2. 発表のポイント：

- ◆NF- κ B シグナル（注1、図1）が軟骨細胞のアポトーシスを防ぎ軟骨を保護する反面、軟骨変性を促す分子を誘導して変形性関節症を促進することを明らかにした。
- ◆NF- κ B シグナルはさまざまな生命現象に関わる重要なシグナルであるが、軟骨における作用は部分的にしか解析されておらず、本研究は生体レベルでその全貌を明らかにした。
- ◆NF- κ B シグナルの活性を制御することによって変形性関節症の予防・治療が実現しうることが示された。

3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科整形外科学の小林寛助教、齋藤琢講師らは、軟骨細胞を制御する新たな分子メカニズムを明らかにした。齋藤琢講師らは以前、転写因子 HIF-2 α が変形性関節症を促進すること、さらに HIF-2 α が NF- κ B シグナルによって誘導されることを報告したが (*Nature Medicine*. 16:678-86, 2010)、NF- κ B シグナルの軟骨での作用は不明であったことから、NF- κ B シグナルの主要な転写因子 RelA/p65 に焦点をあてた研究を行った。

軟骨細胞で RelA を完全にノックアウトしたマウスでは、アポトーシスが亢進して軟骨細胞が減少し、変形性関節症が進んだが、RelA のノックアウトを半分にしたマウスでは逆に変形性関節症が抑えられ、HIF-2 α などの軟骨を変性させる分子が減少していた。NF- κ B シグナルの活性が低いと RelA は抗アポトーシス分子を誘導することで軟骨細胞を保護するが、NF- κ B シグナルの活性が高くなると RelA は HIF-2 α などを強く誘導して関節軟骨を変性させることが分かった。NF- κ B シグナルの活性が軟骨の状態に強く影響することから、その活性の制御が変形性関節症の予防・治療に繋がると期待される。本研究成果は、日本時間 11 月 10 日に *Nature Communications* にて発表された。

4. 発表内容：

NF- κ B シグナルは細胞の生存、組織形成や炎症など、多様な生命現象を制御することが知られている。軟骨細胞でも培養細胞レベルで研究はなされてきたが、いずれも軟骨細胞のごく一部の現象に限った解析にとどまり、軟骨細胞での NF- κ B シグナルの作用の全貌はこれまで不明であった。齋藤琢講師らは以前、関節軟骨が変性する初期段階から転写因子 HIF-2 α の発現が増加し、軟骨基質の分解酵素を誘導することによって変形性関節症を促進することを明らかにしたが (*Nature Medicine*. 16:678-86, 2010)、この研究の中で HIF-2 α が NF- κ B シグナルによって誘導されることが分かったことから、NF- κ B シグナルの軟骨細胞における作用を生体レベルで解明すべく、その主要な転写因子 RelA/p65 に焦点をあてた研究を行った。

軟骨細胞は、軟骨内骨化と呼ばれる骨格形成のステップと、関節機能維持の両方で重要な役割を果たすことから、まず軟骨内骨化での解析を行った。成長期のマウスの成長板軟骨で免疫

組織染色を行ったところ、NF- κ B シグナルの活性を抑制的に制御する I κ B というタンパクが豊富に存在し、Rela も多くは細胞質にとどまるなど、シグナル活性が成長板全体で低く抑えられていることが分かった。次に軟骨細胞特異的な Cre マウスと Rela-flox マウスを交配させて、軟骨組織特異的な Rela ノックアウトマウス (Rela 遺伝子を無効化したマウス) を作製したところ、完全にノックアウトしたホモノックアウトマウスでは軽度の骨格成長障害がみられ、軟骨細胞のアポトーシスが亢進し、軟骨細胞数が有意に減少していた。ノックアウトを半分にしたヘテロノックアウトマウスでは骨格成長は正常であり、Rela の発現量が 1/2 でも軟骨細胞のアポトーシスには影響が出ないことが分かった。

次に関節軟骨での解析を行った。骨格成長後に軟骨組織特異的に Rela をノックアウトし、靭帯・半月板切除によって変形性膝関節症を早期に誘発するモデル (注2) や、加齢による関節軟骨の変化を観察したところ、どちらの系でも Rela のホモノックアウトマウスでは変形性関節症が有意に進行した (図2)。成長板と同様、関節軟骨でもアポトーシスが亢進していたが、興味深いことに HIF-2 α や基質分解酵素の発現も低下していた。そこでヘテロノックアウトマウスで同様の解析をしたところ、ホモノックアウトと正反対に変形性関節症の進行が有意に抑制された (図3)。ヘテロノックアウトではアポトーシスは亢進していなかったが、HIF-2 α や基質分解酵素の発現は低下していた。

Rela が軟骨細胞のアポトーシスを抑制する際、どのような遺伝子の誘導を介しているかを調べるため、マイクロアレイを行ったところ、Traf2 や cIAP1/2 など、従来から NF- κ B シグナルの下流として知られている抗アポトーシス分子の誘導が確認されたが、p85 α と呼ばれる、PI3 キナーゼ (PI3K) を構成する主要サブユニットも誘導されることが分かった。PI3K はタンパク質キナーゼである Akt の活性化を介して NF- κ B シグナルを活性化することが知られていたが、これとは逆に NF- κ B シグナルが PI3K の主要サブユニットを直接的に転写誘導することを証明した。これら抗アポトーシス分子も、前述の HIF-2 α や基質分解酵素も、いずれも Rela によって誘導されることが分かったが、その誘導にどのような違いがあるかを詳細に検討したところ、抗アポトーシス分子はより少ない量の Rela、もしくは NF- κ B シグナルの活性が比較的強く抑えられた状態でも誘導されるのに対して、HIF-2 α や基質分解酵素の誘導にはより多い量の Rela、もしくは NF- κ B シグナルの強い活性化が必要であった。以上より、NF- κ B シグナルの活性が抑えられた状態では Rela は抗アポトーシス分子を誘導することで軟骨細胞を保護しているが、NF- κ B シグナルの活性が亢進した状態では Rela は HIF-2 α などの変性関連因子を誘導して関節軟骨を変性することが証明された。

本研究より、関節軟骨を維持し変形性関節症を予防するには、NF- κ B シグナルの活性を適度に抑制することが重要であることが分かった。NF- κ B シグナルには数多くの阻害剤があり、これらを創薬の起点として既にマウスレベルで研究を開始し、有望な成果を得ている。また過剰な力学的ストレスが NF- κ B シグナルを活性化するメカニズムについても現在多くのデータが得られてきており、関節を使いすぎて軟骨が変性してしまう仕組みが解明される日も近い。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Nature Communications*

論文タイトル：Biphasic regulation of chondrocytes by Rela through induction of anti-apoptotic and catabolic target genes

著者：Hiroshi Kobayashi¹, Song Ho Chang¹, Daisuke Mori^{1,2}, Shozo Itoh¹, Makoto Hirata¹, Yoko Hosaka^{1,2}, Yuki Taniguchi¹, Keita Okada¹, Yoshifumi Mori¹, Fumiko Yano³, Ung-il Chung³, Haruhiko Akiyama⁴, Hiroshi Kawaguchi^{1,5}, Sakae Tanaka¹, and Taku Saito^{1,2*}

¹Sensory & Motor System Medicine, ²Bone and Cartilage Regenerative Medicine, and ³Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Faculty of Medicine, The University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

⁴Department of Orthopaedic Surgery, Gifu University, 1-1 Yanagito, Gifu 501-1193, Japan

⁵Spine Center, Tokyo Shinjuku Medical Center, Japan Community Health care Organization, 5-1 Tsukudotyo, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8543, Japan

DOI 番号 : 10.1038/NCOMMS13336

6. 問い合わせ先 :

<研究に関するお問い合わせ>

東京大学医学部附属病院 整形外科・脊椎外科

講師 齋藤 琢

電話 : 03-5800-8656 (整形外科医局直通) あるいは
内線 37369 (齋藤琢 PHS)

Email : tasaitou-tky@umin.ac.jp

<取材に関するお問い合わせ>

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当 : 小岩井、渡部

電話 : 03-5800-9188 (直通)

E-mail : pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説 :

注1 : NF- κ B シグナル

NF- κ B はさまざまなストレスやサイトカイン等の刺激により活性化される細胞内シグナルである。NF- κ B は免疫反応において中心的役割を果たす転写因子の一つであり、炎症反応や細胞増殖、アポトーシスなどの数多くの生理現象に関与している。刺激が少ない状態では、転写因子 RelA/p65 は I κ B α というタンパクにトラップされているが、刺激が入って IKK と呼ばれるリン酸化酵素が活性化すると、I κ B α は分解され、フリーになった RelA は核内に移行して標的遺伝子の転写を活性化する (図1 参照)。

注2 : 変形性関節症モデル

顕微鏡視下にマウス膝関節の内側側副靭帯と内側半月板を切除する手術を行い、膝関節を不安定な状態にすることによって、短期間で変形性関節症を誘発するモデルのこと。

8. 添付資料：

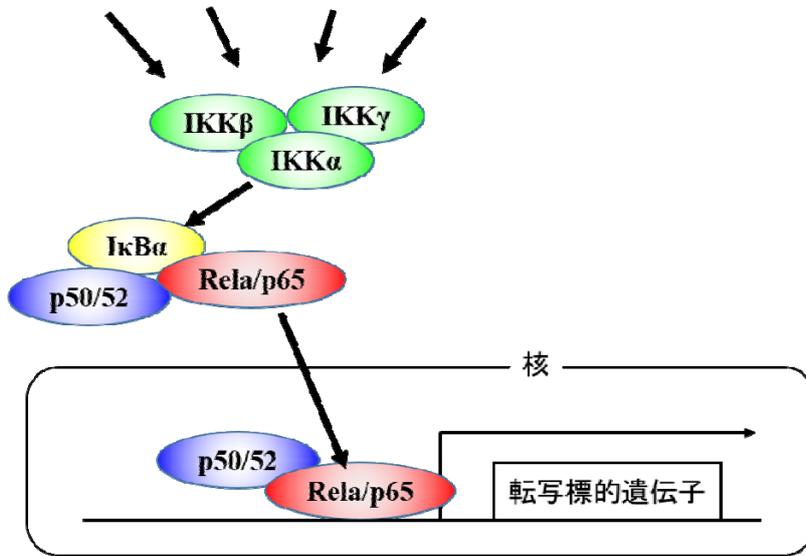


図1 NF-κB シグナルの概略図

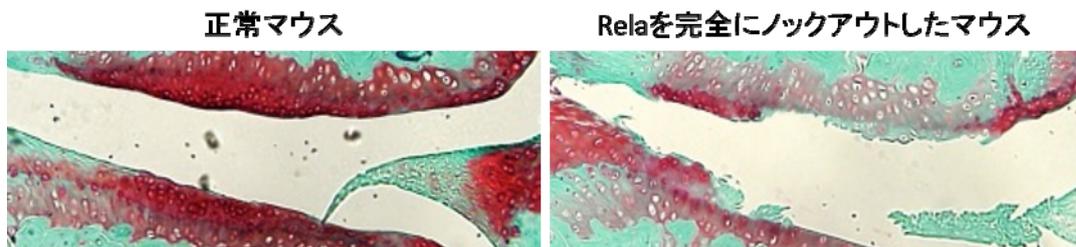


図2 Rela ホモノックアウトマウスの関節軟骨（16か月齢）

骨格成長が落ち着く生後2か月の時点で軟骨細胞でのみRelaをホモノックアウトし、そのまま16か月齢まで飼育した。正常マウスでは表層の関節軟骨が多く残っているが、Relaを完全にノックアウトしたマウス（ホモノックアウトマウス）では関節軟骨の変性が著しく進んでいる。（関節軟骨は赤色に、周囲の骨組織は水色に染めている。）

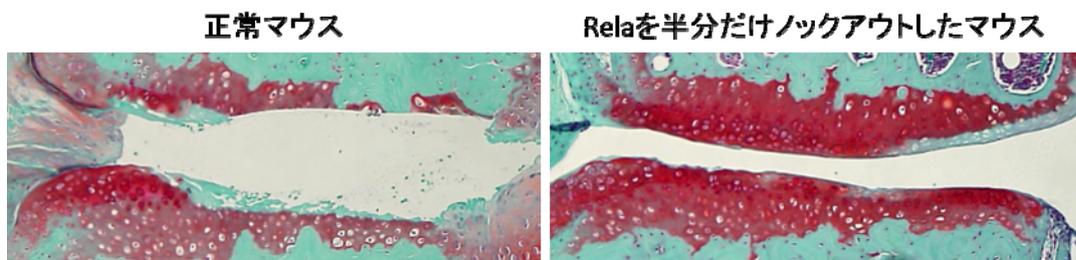


図3 Rela ヘテロノックアウトマウスの関節軟骨（変形性関節症モデル術後2か月）

骨格成長が落ち着く生後2か月の時点で軟骨細胞でのみRelaをヘテロノックアウトし、変形性関節症モデル手術を実施、そのさらに2か月後まで飼育した。図2とは反対に、ヘテロノックアウトマウスでは関節軟骨の変性が抑えられている。