

Hes1 を中心とした変形性関節症の制御機構の解明

1. 発表者： 齋藤 琢（東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部
骨・軟骨再生医療講座 特任准教授）
田中 栄（東京大学大学院医学系研究科／医学部附属病院
整形外科・脊椎外科 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ 変形性関節症の発症・進行に関わる分子として新たに Hes1 とよばれるタンパク質をマウスにおいて同定し、その病態制御メカニズムを解明しました。
- ◆ 変形性関節症の強力な制御因子である Notch シグナル（注 1）の中心として、転写因子 Hes1 がさまざまなタンパク分解酵素や炎症性分子を誘導する機構を明らかにしました。
- ◆ Notch・Hes1 の一連のシグナルによる変形性関節症の制御機構が判明したことで、将来の治療標的となりうる候補分子が複数得られました。

3. 発表概要：

変形性関節症は高齢者の運動機能を脅かす代表的な疾患であり、膝関節だけで国内に 2,530 万人の患者がいると推定されていますが、根治療法は開発されていません。

東京大学大学院医学系研究科／医学部附属病院 整形外科と同医学部附属病院骨・軟骨再生医療講座、同疾患生命工学センターの合同研究チームは、以前 Notch シグナル（図 1）が変形性関節症を強く制御することをマウスの実験によって発見し報告しました（プレスリリース：http://www.h.u-tokyo.ac.jp/press/press_archives/20130115.html）。

今回、同チームの杉田守礼医師、田中栄教授、齋藤琢特任准教授らは、遺伝子改変マウスや次世代シーケンサーによる転写解析などを駆使して、Notch シグナルの中心として転写因子である Hes1 タンパク質がさまざまなタンパク分解酵素や炎症性分子を誘導する機構を明らかにしました。さらに、本研究の成果から変形性関節症の治療標的となりうる候補分子が複数得られました。Notch・Hes1 は神経系など多くの組織・臓器の構築に重要な役割を果たすことから、これらの知見は生物学の幅広い分野でも役立つことが期待されます。

4. 発表内容：

軟骨は 2 型コラーゲンやアグリカンといったタンパク質から成り立っており、これらを分解する酵素 MMP-13 や ADAMTS-5 は変形性関節症を発症・進行させます。本研究チームは、以前 MMP-13 を誘導するシグナルとして、Notch シグナルを同定しました（*Proc Natl Acad Sci U S A.* 110:1875-80, 2013）。成長後に軟骨細胞でのみ Notch シグナルが働かなくなるマウスを作成し、変形性関節症モデル（注 2）を作成したところ、変形性関節症の進行が抑制されたほか、Notch シグナルの阻害剤をモデルマウスの膝関節内に注射したところ、同様に変形性関節症の進行は抑制されました。しかし Notch シグナルが伝達していく際の詳しい分子機構は解明できていませんでした。

それを解明するため、今回、同チームの杉田守礼医師、田中栄教授、齋藤琢特任准教授らは、軟骨細胞における Notch シグナルが伝達していく際の分子の発現を調べ、豊富に発現している Hes1 タンパク質という転写因子に注目しました。成長後に軟骨細胞でのみ Hes1 を

働かなくなるマウスを作成し、変形性関節症モデルを作成したところ、変形性関節症の進行が著明に抑制されました（図 2 参照）。次世代シーケンサーやマイクロアレイを用いて Hes1 が誘導する遺伝子を探索したところ、上述の MMP-13 や ADAMTS-5 のみならず、炎症性分子として知られる IL-6 や、IL-33 の受容体である IL1RL1 などが含まれることが分かりました。

また Hes1 は一般的に遺伝子の転写を抑制する分子として知られていますが、変形性関節症の進行過程ではこのような遺伝子群の転写を促進することから、その仕組みを調べたところ、Hes1 がカルモジュリンキナーゼと呼ばれる酵素によってリン酸化されることが分かりました。さらに、Hes1 とカルモジュリンキナーゼの両者を強制発現させると、軟骨細胞において MMP-13、ADAMTS-5、IL-6、IL1RL1 などが強く誘導された一方、Hes1 のリン酸化部位を機能しなくすると Hes1 はこれらの遺伝子の発現を誘導しなくなることから、Hes1 はカルモジュリンキナーゼの影響を受けて転写促進因子に変貌することも分かりました（図 3 参照）。この Hes1 とカルモジュリンキナーゼの関係は 2004 年に培養細胞レベルで提唱されましたがその後実験によって確認されておらず、本研究は世界で初めて、この 2 つの分子の関係性を生体レベルで証明しました。

Hes1、カルモジュリンキナーゼともに比較的多様な細胞、組織に発現していることから、この分子機構は関節軟骨以外でも何らかの役割を担っている可能性があります。またカルモジュリンキナーゼには多彩な阻害剤が開発されていることから、Notch シグナルとカルモジュリンキナーゼは変形性関節症の治療ターゲットとなりうると期待されます。研究グループでは、マウス、ラットを用いた検証実験を重ねるほか、大型動物での検証実験も計画しています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：米国科学アカデミー紀要 (*Proc Natl Acad Sci U S A.*)

論文タイトル：Transcription factor Hes1 modulates osteoarthritis development in cooperation with calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2

著者：Shurei Sugita, Yoko Hosaka, Keita Okada, Daisuke Mori, Fumiko Yano, Hiroshi Kobahashi, Yuki Taniguchi, Yoshifumi Mori, Tomotake Okuma, Song Ho Chang, Manabu Kawata, Shuji Taketomi, Hirotaka Chikuda, Haruhiko Akiyama, Ryoichiro Kageyama, Ung-il Chung, Sakae Tanaka, Hiroshi Kawaguchi, Shinsuke Ohba, Taku Saito*

6. 注意事項：

日本時間 3 月 3 日（火）午前 5 時（米国東部標準時間 3 月 2 日（月）午後 3 時）以前の公表は禁じられています。新聞掲載は 3 日朝刊以降解禁となります。

7. 問い合わせ先：

<研究に関する問い合わせ>

東京大学医学部附属病院 ティッシュ・エンジニアリング部 骨・軟骨再生医療講座
特任准教授 齋藤琢

電話：03-3815-5411（代表） 整形外科医局事務室 内線：33376 齋藤琢宛

E-mail：tasaitou-tky@umin.ac.jp

<取材に関する問い合わせ>

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

8. 用語解説：

注1：Notch シグナル

細胞膜に存在する Delta, Jagged と呼ばれるリガンド分子が、隣接する細胞の細胞膜に存在する Notch と呼ばれる受容体に結合すると、Notch の細胞内ドメインが切り離されて核内に移動し、ゲノムに結合して、Hes1 などの転写因子を誘導します。この一連の流れを Notch シグナルと称します（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事です。

9. 添付資料：

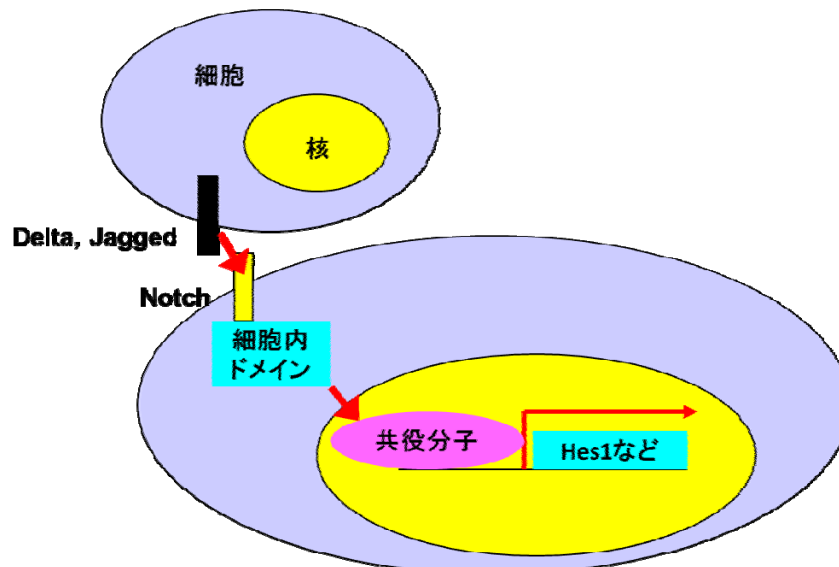


図1. Notch シグナルの概略図

Notch シグナルは、主に隣接する細胞間でのシグナル伝達経路として知られています。リガンド分子が Notch 受容体に結合すると、Notch の細胞内ドメインは切り離されて核内に移動し、Rbpj などの共役分子と結合して転写活性化複合体を形成し、Hes などの転写因子を誘導します。誘導された Hes などはゲノム上のさらに別の遺伝子の転写制御を行います。

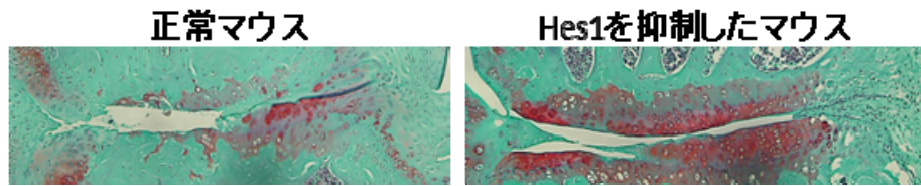


図 2. Hes1 抑制マウスでの変形性関節症モデル実験

成長後に軟骨細胞でのみ Hes1 を働かなくなるマウスを作成し、変形性関節症モデルを作成して 8 週間後に解析を行った画像です。関節軟骨は赤色に、周囲の骨組織は水色に染まっています。同様にモデルを作成した対照群の正常マウスでは関節軟骨が著明に減少していますが、Hes1 を抑制したマウスでは関節軟骨が多く残存しています。

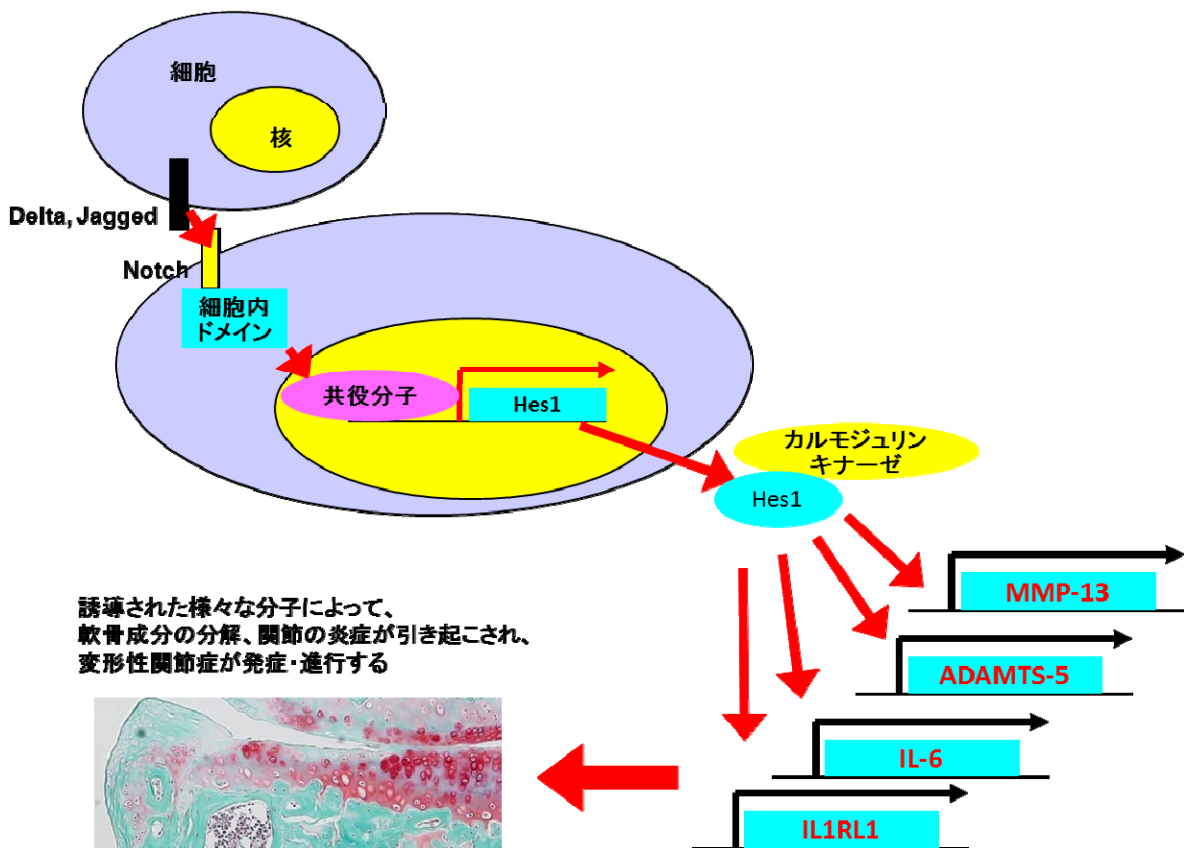


図 3. 本研究で明らかになった Hes1 による変形性関節症の制御機構

Notch シグナルによって誘導された Hes1 は、カルモジュリンキナーゼによる影響を受けて転写活性を獲得し、軟骨成分の分解酵素である MMP-13、ADAMTS-5 や、炎症性分子である IL-6 や IL1RL1 など誘導することにより、変形性関節症の発症・進行を促すことがわかりました。