

氏名(本籍)	木 澤 秀 樹 (茨城県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博乙第2201号
学位授与年月日	平成18年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	<b>Identification of Asporin as a Susceptibility Gene for Osteoarthritis and Its Physiological Role in Articular Cartilage</b> (変形性関節症感受性遺伝子としてのアスポリンの同定とその関節軟骨における生理的役割)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学教授 農学博士 小林達彦
副査	筑波大学教授 博士(薬学) 柳澤純
副査	筑波大学助教授 博士(農学) 谷本啓司

### 論文の内容の要旨

変形性関節症(OA)は、膝などの関節軟骨が変性、消失し、骨同士が直接接触することにより痛みや機能障害を引き起こす多因子疾患である。現時点でその発症の原因および有効な治療法は知られていないことから、著者はOA感受性遺伝子の同定を目的として本研究を行った。

アスポリンは、SLRP (Small leucine-rich proteoglycan) ファミリーに属する機能未知の細胞外基質タンパクであり、そのN末にアスパラギン酸(D)のリピート多型(D10-D19)を有する。このファミリーに属するタンパクのKOマウスにOAを発症するものがあることと、OA患者の関節軟骨でアスポリン遺伝子(ASPIN)の発現が著明に増加していたことから、ASPINを多型解析の候補遺伝子として選んだ。解析の結果、Dリピート多型は日本人膝関節OAと股関節OAの両方と有意な相関を示し、膝関節OAの重症な人ほどD14を持つ割合が高いことがわかった。

次に、この相関解析の結果を機能的に検証することを目的として、*in vitro* 軟骨分化モデルであるATDC5細胞におけるアスポリンの機能を調べた。アスポリンはATDC5細胞における軟骨分化を抑制し、TGF- $\beta$ 刺激による軟骨分化マーカーの発現上昇を抑制することが分かった。そこで、D14と他のアレルとの間でアスポリンのTGF- $\beta$ 作用抑制活性の強さを比較したところ、D14の活性は他のアレルを持つアスポリンより有意に強かった。

OAは関節軟骨の疾患であることから、次に正常ヒト関節軟骨細胞(NHAC)におけるアスポリンの生理的役割について調べた。アスポリンはNHACにおいてもTGF- $\beta$ による軟骨基質遺伝子の発現を抑制した。アスポリン特異的siRNAは軟骨基質遺伝子の発現を有意に増加させた。アスポリンの発現はTGF- $\beta$ により一過性に誘導された。アスポリンはTGF- $\beta$ と*in vitro*で結合活性を示し、細胞外でTGF- $\beta$ とco-localizeした。さらに、OA患者関節軟骨病変部では、アスポリンとTGF- $\beta$ の発現が非病変部よりも増加しており、それらの一部がco-localizeする像も認められた。

## 審査の結果の要旨

アスポリン (ASPIN) は SLRP ファミリーに属する細胞外基質タンパクの役割を担うのではないかと考えられていたが、機能は同定されていなかった。本研究は、アスポリンの N-末端側にある D リピートと OA の関節軟骨でアスポリン遺伝子が有意に発現増強していることに着目し、OA 感受性遺伝子と同定した点の特筆に値する。特に、D リピートは、神経性疾患発症においても遺伝子変異を伴う機能変換機構として注目を集めている。そこで筆者は、アスポリン D リピート多型の違いが軟骨基質産生抑制作用の強さの個体差をもたらし、OA 感受性を決める要因であると提唱している。また、正常軟骨ではアスポリンの誘導的な発現調節により TGF- $\beta$ 1 の軟骨基質産生作用は一定レベルに制御されているが、OA 軟骨ではアスポリンの異常な高発現により関節軟骨細胞における TGF- $\beta$ 1 に対する感受性が低下し、このことが OA の発症・進展をもたらす一因であると考察している。これらのことから、アスポリンが関節軟骨細胞における TGF- $\beta$ 1 作用を negative feedback 調節する制御因子であることを示唆した。

以上のように、本研究の成果から、アスポリンの発現や作用を抑制することで軟骨基質産生能を賦活化するという新たな OA 治療の可能性が提示され、分子遺伝学から治療応用への基盤的道筋を示す画期的な研究であると判断される。

よって、著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。