

## 上原 悠輔 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

#### 関節軟骨変性における C/EBP homologous protein の役割 (The role of C/EBP homologous protein in cartilage degeneration)

変形性膝関節症（膝 OA）は、軟骨変性を主体とした病態である。軟骨変性の病態における分子メカニズムは未だ十分に明らかにされていないが、近年小胞体ストレスとの関連性が指摘されている。申請者らは、ヒト OA 軟骨において、軟骨変性の進行とともに軟骨細胞のアポトーシスと小胞体ストレス性アポトーシスの誘導因子 C/EBP homologous protein (CHOP)の発現が増加することを報告した。しかし、軟骨変性における CHOP の直接的な役割は不明である。本研究は、*Chop* 遺伝子欠損 (*Chop*<sup>-/-</sup>) マウスの OA モデルと初代培養軟骨細胞を用いて、軟骨変性と軟骨細胞アポトーシスにおける CHOP の役割を検討したものである。

申請者は、野生型 (*Chop*<sup>+/+</sup>) と *Chop*<sup>-/-</sup> マウスに対して、膝の内側側副靭帯切離と内側半月板切除による OA モデルを作製し、軟骨変性、小胞体ストレスおよびアポトーシスの程度を評価した。また、両マウスの関節軟骨より単離した軟骨細胞に対して、小胞体ストレス誘導剤 Tunicamycin (TM) を投与後、小胞体ストレス、アポトーシスおよび軟骨細胞機能について評価した。マウス OA モデルにおいて、*Chop*<sup>+/+</sup> マウスでは軟骨変性の進行とともに CHOP が増加し、小胞体ストレスマーカー GRP78 と XBP1s が増加した。また、変性に伴って、アポトーシスの誘導を示す断片化 DNA と活性型 caspase-3 が増加し、II 型コラーゲン (COL2) の低下と基質分解酵素の MMP13 の増加を認めた。*Chop*<sup>-/-</sup> マウスでは、*Chop*<sup>+/+</sup> マウスと同等の GRP78 と XBP1s の誘導を認めたが、軟骨変性の進行が抑制され、アポトーシス誘導、COL2 低下、および MMP13 増加が抑制された。細胞培養系では、*Chop*<sup>+/+</sup> マウス由来軟骨細胞に TM を投与すると、*Chop*、*Grp78* および *Xbp1s* mRNA とアポトーシスが増加し、アグリカン (*Acan*) と *Col2a1* mRNA の低下、および *Mmp13* mRNA の増加を認めた。*Chop*<sup>-/-</sup> マウス由来軟骨細胞では、*Chop*<sup>+/+</sup> と同等の *Grp78* と *Xbp1s* mRNA 増加を認めたが、アポトーシス誘導、*Acan* と *Col2a1* mRNA 低下、および *Mmp13* mRNA 増加が抑制された。

以上の結果より、*Chop*<sup>-/-</sup> マウスではアポトーシス抑制と同時に軟骨変性の進行が抑制されることから、CHOP を介したアポトーシスが軟骨変性の進行に関与することが明らかとなった。また *Chop*<sup>-/-</sup> マウス由来軟骨細胞では小胞体ストレス性アポトーシスの抑制と同時に軟骨細胞の同化作用低下と異化作用亢進が抑制されており、CHOP を介したアポトーシスが軟骨細胞機能に重要な役割を果たすことが示された。

審査の過程において、OA の高齢者における頻度や遺伝的背景、正常の軟骨や軟骨細胞の特性、OA モデル作製の手術手技、OA モデルの短期的な組織変化とより長期的な解析結果、用いたマウス週齢の妥当性、*Chop*<sup>-/-</sup> マウスのフェノタイプ、OA において小胞体ストレスが惹起される機序、CHOP 以外のアポトーシス誘導経路の有無、COL2 測定法の信頼性、得られた知見の臨床への応用、などについて質疑応答がなされ、申請者からは適切な回答や考察がなされた。

本研究は、CHOP を介した小胞体ストレス性アポトーシスが軟骨変性の進行に寄与し、CHOP が OA の病態に重要な役割を担うことを明らかにした点で学位に値すると評価された。

審査委員長 代謝内科学担当教授

荒木栄一