

Title	Tetraspanin CD151 Is Expressed in Osteoarthritic Cartilage and Is Involved in Pericellular Activation of Pro-Matrix Metalloproteinase 7 in Osteoarthritic Chondrocytes
Sub Title	4回膜貫通蛋白質CD151は変形性関節症軟骨に発現し、軟骨細胞における潜在型MMP-7の細胞膜上での活性化に関与している
Author	藤田, 貴也
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.44-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0044

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Tetraspanin CD151 Is Expressed in Osteoarthritic Cartilage and Is Involved in Pericellular Activation of Pro-Matrix Metalloproteinase 7 in Osteoarthritic Chondrocytes

(4回膜貫通蛋白質CD151は変形性関節症軟骨に発現し、軟骨細胞における潜在型MMP-7の細胞膜上での活性化に関与している)

藤 田 貴 也

内容の要旨

分泌型Matrix metalloproteinase (MMP) は、潜在型で産生され細胞外で活性化されることによって、様々な細胞外マトリックスなどを分解することが知られている。潜在型MMP-7 (proMMP-7) が変形性関節症 (OA) 軟骨に過剰に発現しているが、その活性化の機構については不明な点が多い。

本研究は、4回膜貫通蛋白質CD151のOA軟骨における発現と、さらにproMMP-7の活性化への関与を調べることを目的に以下の実験を行った。

関節軟骨におけるCD151の発現は、RT-PCR、real-time PCR、免疫染色、*in situ* hybridizationとimmunoblottingによって調べた。培養軟骨細胞はCD151とproMMP-7の相互作用と共発現さらにproMMP-7の活性化の証明するために用いられた。

RT-PCRによってCD151のmRNAは、すべてのOA軟骨サンプルに認められたが、正常軟骨では30%のサンプルでしか発現していなかった。CD151がOA関節軟骨の浅層・中間層の軟骨細胞に発現することが、免疫染色と*in situ* hybridizationによって明らかになった。さらに、CD151とproMMP-7の免疫染色をミラー切片に行うことにより、CD151とproMMP-7がOA軟骨における同一の軟骨細胞に共発現していることが明らかになった。CD151陽性細胞の割合はOA進行の指標であるMankin scoreさらに軟骨細胞クローニングの程度と強い正の相関が認められた。CD151とproMMP-7の相互作用は、IL-1・TNF α による刺激培養軟骨細胞のcell lysateをCD151の特異抗体によって免疫沈降しproMMP-7の特異抗体で検出することで証明した。さらに培養軟骨細胞膜上での両分子のcolocalizationを共焦点顕微鏡を用いた二重蛍光免疫染色によって証明した。proMMP-7の活性化をMMP-7の基質であるCCmTfフィルムを用いた*in situ* zymographyによって検出し、MMPインヒビターやMMP-7の特異抗体やCD151の特異抗体によって基質分解が阻害されることから、CD151がproMMP-7の活性化に関与していることが証明された。

以上の結果より、CD151は、OA関節軟骨に過剰に発現し、軟骨細胞膜上でのproMMP-7の活性化に関与し、その結果、軟骨マトリックスの破壊や軟骨細胞クローニングをもたらすことが示唆された。

論文審査の要旨

分泌型Matrix metalloproteinase (MMP) は、潜在型で産生され細胞外で活性化されることが知られている。潜在型MMP-7 (proMMP-7) が変形性関節症 (OA) 軟骨に過剰に発現しているが、その活性化の機構については不明な点が多い。そこで本研究は、4回膜貫通蛋白質CD151のOA軟骨における発現とproMMP-7の活性化への関与を調べた。RT-PCRによりCD151 mRNAの発現率は、OAで100%、正常軟骨で30%であり、相対的発現量もOAで有意に亢進していた。CD151はOA関節軟骨の浅層・中間層の軟骨細胞に局在しMankin scoreと軟骨細胞クローニングの程度と強い正の相関が認められた。さらに、CD151とproMMP-7はOA軟骨における同一の軟骨細胞に共発現しており、CD151とproMMP-7の相互作用は、IL-1・TNF α による刺激培養軟骨細胞のcell lysateをCD151抗体で免疫沈降しproMMP-7の特異抗体で検出することで証明した。さらに培養軟骨細胞膜上での両分子のco-localizationを蛍光二重免疫染色によって証明した。proMMP-7の活性化をMMP-7の基質であるCCmTfフィルムを用いた*in situ* zymographyによって検出し、MMPインヒビターやMMP-7の特異抗体やCD151の特異抗体によって基質分解が阻害されることから、CD151がproMMP-7の活性化に関与していることを証明した。

審査では、まず潜在型MMP-7には基質分解活性がないのかとの質問がなされた。潜在型MMPは活性中心のZnイオンがプロペプチドドメインのシステイン残基のSH基と共有結合することで非活性に保たれていると回答された。また、CD151とインテグリンとの結合に関する質問がなされた。CD151と $\alpha 3 \beta 1$ や $\alpha 5 \beta 1$ といったインテグリンとの複合体形成が報告されており、インテグリンの作用を調節していると回答された。次に、CD151のシグナル伝達についての質問がなされた。CD151のC末端細胞内ドメインが欠損すると接着が低下することが報告されているが本研究ではシグナルについて検討していないと回答された。さらに、OA軟骨と正常軟骨におけるCD151発現率がmRNAレベルと蛋白質レベルでの違いについての質問がなされた。正常軟骨として使用しているサンプルが高齢者の大腿骨頭であることが一つの原因であると回答された。また、MMP-7がIL-1 α ・TNF- α でup-regulateされているがCD151のup-regulatorについての質問がなされた。IL-1 α ・TNF- α ・TGF- β ・VEGF刺激してもCD151 mRNAレベルに変化がなかったと回答された。

以上のように、本研究は未だ検討されるべき点を残しているものの、CD151はOA関節軟骨に過剰に発現し、軟骨細胞膜上でのproMMP-7の活性化に関与し、その結果、軟骨マトリックスの破壊や軟骨細胞クローニングをもたらすことを示唆した点で有意義であると評価された。

論文審査担当者 主査 整形外科学 戸山 芳昭

病理学 坂元 亨宇 リハビリテーション医学 里宇 明元

発生・分化生物学 須田 年生

学力確認担当者:

審査委員長: 坂元 亨宇

試問日: 平成18年12月27日