

2019年6月3日

原著論文解説

広島大学病院 リウマチ・膠原病科 茂久田 翔

## 「関節軟骨の恒常性を維持する遺伝子とそのメカニズムの解明」 — 関節軟骨損傷への治療応用を目指して —

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生・再生医学分野の浅原弘嗣教授、米国スク립ス研究所茂久田翔研究者らの研究グループは、広島大学病院リウマチ・膠原病科との共同研究で、関節軟骨の機能維持に重要なユビキチン化タンパク Wwp2 の発現及び機能解析を行い、変形性関節症に対する新規治療標的となりうる可能性を報告しました。研究成果は、国際科学誌 Nature Communications に、2019年6月3日付で発表されました。

### 【論文情報】

掲載誌： Nature Communications 10: 2429 (2019)

論文タイトル： Wwp2 maintains cartilage homeostasis through regulation of Adamts5.

### 【ポイント】

- 関節軟骨の機能維持に重要な遺伝子である、ユビキチン化酵素<sup>(注)</sup>Wwp2 について、ヒト及びマウスでの発現パターンを解析し、遺伝子改変マウスを用いてその分子メカニズムを明らかにしました。
- Wwp2 タンパクを細胞内で産生する能力を持つ mRNA を人工的に合成し、関節軟骨に導入することに成功しました。導入されたマウスでは、関節軟骨の破壊を予防できることが確認されました。
- 本成果により、変形性関節症による軟骨の損傷を防ぐための新しい治療法の開発が期待されます。

(注) ユビキチン化酵素

ユビキチン化酵素は、基質にユビキチンを結合させる機能を有する酵素タンパクのこと。

ユビキチンは細胞内に存在する小さなタンパクであり、他のタンパク(基質)に結合する(ユビキチン化することによって、不要になった基質の除去や細胞内でのシグナル伝達が生じる。

### 【研究の背景】

変形性関節症は、関節内の軟骨が摩耗した結果、関節の炎症や変形を起こす疾患です。本邦では1000万人の患者がいると言われていています。変形性関節症はあらゆる関節で引き起こされる可能性がありますが、特に膝や股関節の症状は日常生活の質を大きく低下させます。軟骨細胞は分裂能に乏しく、損傷した軟骨組織は移植術を行う以外の方法で改善させることは困難です。リハビリテーションによる筋力の維持や、消炎鎮痛剤の内服やステロイド製剤、ヒアルロン酸製剤の関節内投与などの治療は、痛みなどの症状を緩和させるために

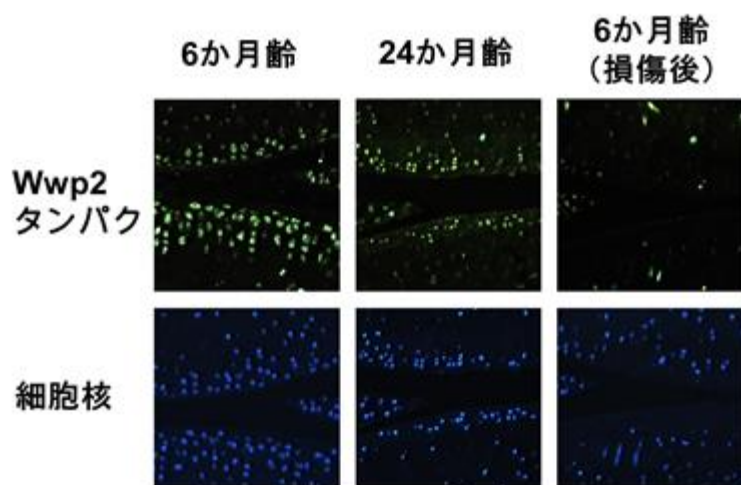
有効ですが、長期の通院が必要になります。これらの保存的療法でも症状がコントロールできず、関節変形の進行した患者さんでは、人工関節置換術などの手術が必要となるケースもあります。損傷した関節軟骨を修復する治療法が望まれますが、現時点では実現していません。

しかしながら、これまで報告された多くの研究によって、軟骨細胞により産生される軟骨基質と軟骨分解酵素のバランスが崩れた(分解が優位になった)場合に軟骨損傷が増悪することが、変形性関節症の中心的なメカニズムであると考えられており、このバランス(軟骨組織の恒常性)を改善させることが、新規治療法を考える上で重要なポイントであると想定されています。

Wwp2 は、比較的未熟な軟骨組織において多量に発現することがすでに報告されていることから、これらの組織において何らかの機能を有すると考えられていますが、成熟した関節軟骨における機能については報告がありませんでした。今回の研究では、変形性関節症とユビキチン化酵素の一つである Wwp2 というタンパクの関連性について、ヒト及びマウスでの発現や機能の解析を行いました。

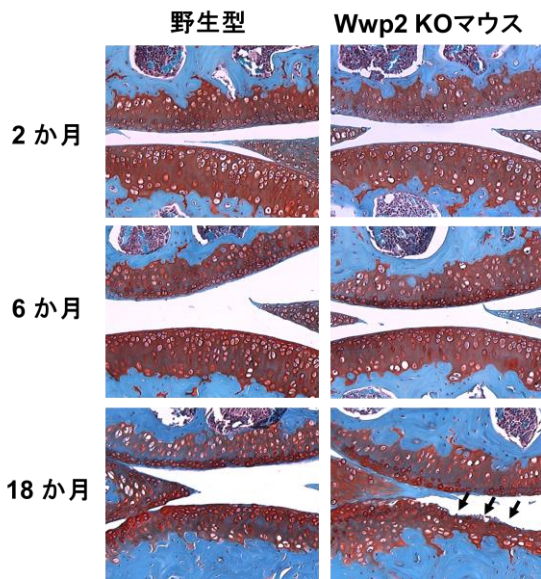
### 【研究成果の概要】

Wwp2 というタンパクは、ヒトとマウスの両方で成熟した関節軟骨で発現しています。研究グループは今回の研究において、年齢を重ねる(マウスでは 24 か月間)、もしくは、軟骨が損傷することで Wwp2 のタンパク量が減少していくことを確認しました【図1】。



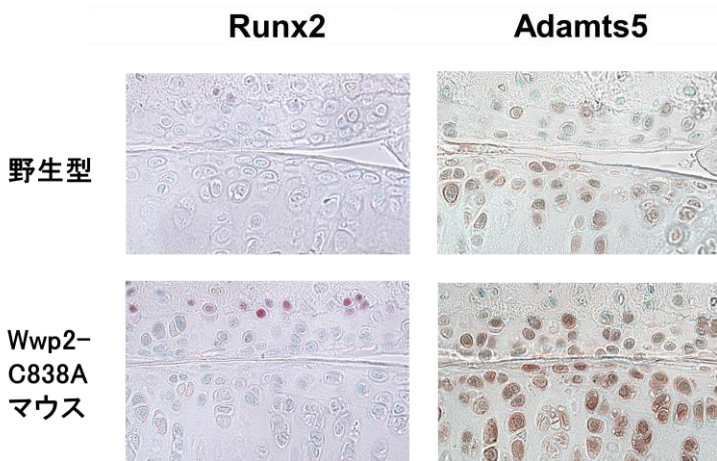
【図1】野生型マウスの膝関節軟骨の組織像(緑色が Wwp2, 青色が細胞内の核を表す。)

昨年、当研究室では、Wwp2 タンパクの発現が欠損したマウス(Wwp2 KO マウス)を作成し、これを報告しました(出典1)。このマウスでは、出生直後からしばらくの間、野生型と比較してあきらかな変化は認められませんでした。18 か月間飼育することで、膝関節に軟骨の欠損(変形性関節症)を生じることが判明しました【図2】。したがって、Wwp2 というタンパクが欠損している場合、軟骨が欠損しやすくなっていると考えられました。



【図2】野生型とWwp2 KO マウスの膝関節軟骨の組織像(矢印が損傷箇所)

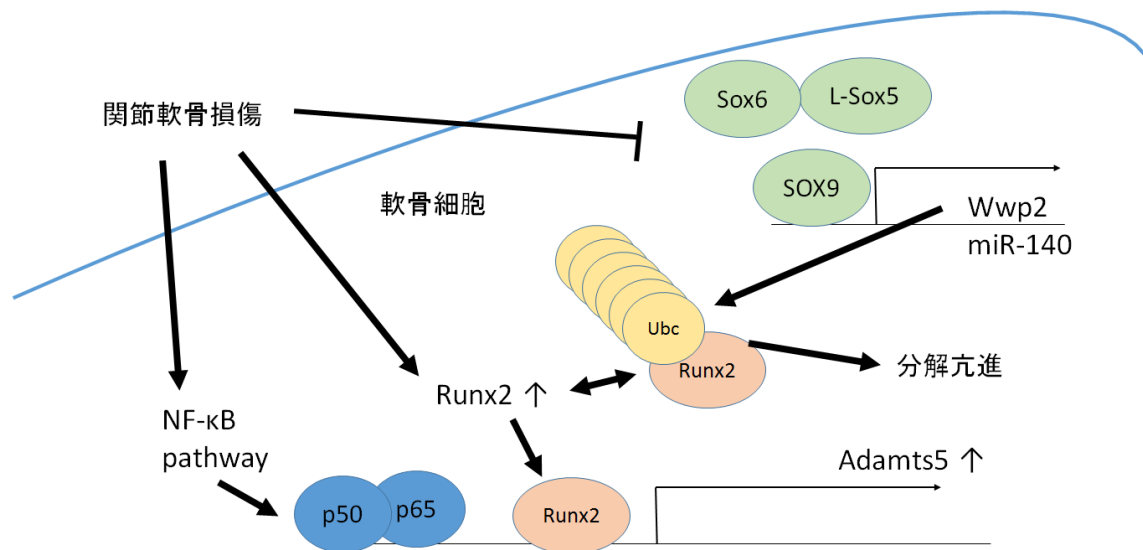
その後、さらなる解析によって、Wwp2 KO マウスでは、関節軟骨での Runx2 や Adamts5 といった、軟骨の恒常性を悪化させる因子の発現が増加していることが判明しました。Adamts5 は、軟骨を支える軟骨基質の一つであるアグリカンを分解する酵素であり、Runx2 はその転写を活性化する制御因子です。Wwp2 のユビキチン化酵素活性を失活させたマウス(Wwp2-C838A マウス、当研究室で樹立された)でも同様の現象が確認できるため、Wwp2 の持つユビキチン化酵素活性が変形性関節症の病態に重要な役割を担っていることも突き止めました【図3】。



【図3】Wwp2 ユビキチン化酵素失活マウスの膝関節軟骨組織における Runx2 と Adamts5 の発現解析。タンパクはそれぞれ赤く染色されている。

の膝関節軟骨組織における Runx2 と Adamts5 の発現解析。タンパクはそれぞれ赤く染色されている。

また、研究グループは、Wwp2 と Runx2 や Adamts5 との分子レベルでの関連性も検討しました。Wwp2 は、ユビキチン化酵素であり、この酵素によってユビキチン化されたタンパクは、プロテアソームという細胞内小器官によって分解される場合があるとされています。検討の結果、Wwp2 は Runx2 をポリユビキチン化し、Runx2 のタンパク量を減少させることが分かりました。これらの結果から、軟骨細胞内では、Wwp2 が Runx2 の分解を誘導し、それに続いて Adamts5 の発現が低下することを明らかにすることができました【図4】。

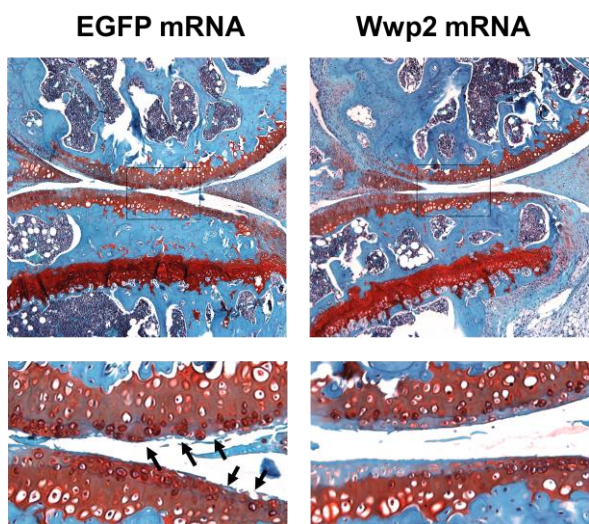


【図4】 軟骨細胞における Wwp2、Runx2、Adamts5 の関連性 (模式図)

本研究、及び、これまでの報告から想定される作用機序を模式化した。

これらの研究結果を踏まえ、Wwp2 タンパクを細胞内で産生する能力を持つ mRNA (メッセンジャーRNA = タンパク質合成の鋳型となる RNA) を人工的に合成し、関節軟骨に導入することに成功しました。導入されたマウスでは、関節軟骨の破壊を予防することができることが確認されました。Wwp2 タンパクを軟骨細胞内で増加させるアプローチは、変形性関節症による軟骨の損傷を防ぐための新しい治療方法として期待されます。

### 関節損傷後に核酸系試薬を投与



【図5】 変形性関節症のマウスモデルにおいて、Wwp2 の mRNA を投与した結果、軟骨の損傷が減少した。(矢印が損傷箇所)

### 【研究成果の意義】

本研究において、Wwp2 は変形性関節症の病態形成に重要な因子であることが明らかになりました。また、手

術、移植術等の観血的治療以外の治療法が確立していない本疾患において、新しい治療法を提案することができた点において、本研究の重要性は高いと考えられます。多くの患者が存在する変形性関節症に対し、この結果を応用することによって、有用な新しい保存的治療が開発されることが期待されます。

**【参考文献】**

出典1 Inui M, Mokuda S, *et al.* (2018) Dissecting the roles of miR-140 and its host gene. *Nat. Cell Biol.* 20, 516–518

出典2 Mokuda S, *et al.* (2019) Wwp2 maintains cartilage homeostasis through regulation of Adamts5. *Nat Commun.* 10, 2429