

熊本大学学術リポジトリ

Kumamoto University Repository System

Title	SIRT7 is an important regulator of cartilage homeostasis and osteoarthritis development
Author(s)	興梠, 航
Citation	Biochemical and Biophysical Research Communications, 496(3): 891-897
Issue date	2018-03-25
Type	Thesis or Dissertation
URL	http://hdl.handle.net/2298/40282
Right	

興 梶 航 氏 の 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論 文 題 目

SIRT7 is an important regulator of cartilage homeostasis and osteoarthritis development

(SIRT7 は軟骨の恒常性および変形性関節症の発症において重要な調節因子である)

NAD 依存性脱アシル化酵素である Sirtuin (SIRT) ファミリーの SIRT7 は、Osterix の転写活性化能を促進することで骨形成を制御している。一方、軟骨組織における SIRT7 の役割については不明である。また、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が、その分子機構の解明は未だ十分ではない。申請者は、*Sirt7* ノックアウト (*Sirt7* KO) マウスの膝関節における軟骨変性の組織学的解析と、培養軟骨芽細胞における SIRT7 の機能解析を行い、軟骨組織の機能調節における SIRT7 の役割を解明することを目的として以下の研究を実施した。

まず初めに、老化による膝関節の軟骨変性について解析した。高齢 (1 年齢および 2.5 年齢) の *Sirt7* KO マウスと野生型 (WT) マウスの膝関節脱灰標本を作製後、サフラニン O 染色を行い、マンキンスコアによる関節軟骨部位損傷の評価を行った。その結果、2.5 年齢の *Sirt7* KO マウスの軟骨変性は、WT マウスと比較して有意に抑制されていた。一方、1 年齢の *Sirt7* KO マウスでは、WT マウスと差は認めなかった。次に、10 週齢の *Sirt7* KO マウスと WT マウスを用いて 6 週間の強制走行負荷による非侵襲性膝 OA モデルを作製し、同様に関節軟骨部位損傷の評価を行った。その結果、高齢のマウスと同様に *Sirt7* KO マウスにおいて軟骨変性が有意に抑制されていた。さらに軟骨芽細胞株 ATDC5 細胞を用いた軟骨芽細胞分化実験において *Sirt7* をノックダウンした結果、アルシアンブルー染色される軟骨基質が増加し、軟骨芽細胞分化マーカー遺伝子である *Acan*、*Col2a1*、*Col10a1* の発現の上昇を認めた。このことから、SIRT7 の減少により軟骨芽細胞の軟骨基質の発現が促進されることが明らかとなった。そこでその分子機構を解明するために、軟骨細胞における重要な転写因子である SOX9 と SIRT7 の関連性に着目し、ルシフェラーゼレポーターアッセイ、免疫染色、免疫沈降法、そしてアセチル化アッセイを行った。その結果、SIRT7 と SOX9 は互いに結合していることが明らかになった。一方、*Sirt7* を強制発現やノックダウンさせた場合に、SOX9 のアセチル化に影響は認められなかった。

本研究により、*Sirt7* KO マウスは膝 OA の発症が抑制され、SIRT7 は SOX9 に対して負に作用し、軟骨基質の発現を抑制することが明らかになった。これらの結果から申請者は、SIRT7 が軟骨の恒常性および変形性関節症の発症における重要な調節因子であると結論づけた。

審査では、用いた実験動物の年齢とヒト年齢の関係、サフラニン O 染色の原理、SIRT7 の局在、マンキンスコアの算出方法、マンキン法の使用に際して考慮すべき点、膝 OA 発症と進行の機序、*Sirt7* KO マウス軟骨細胞の形態、SIRT7 の標的基質、*Sirt7* KO マウスの発育異常の有無などについての質疑がなされ、申請者より適切な回答がなされた。

本研究は、SIRT7 が軟骨の恒常性および変形性膝関節症の発症における重要な調節因子であるという新たな知見を示したものであり、医学の発展に貢献する有意義な研究であり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 分子生理学担当教授

