

一 般 演 題 抄 録

1. 酸化 LDL によるウシ関節軟骨細胞における phosphoinositol3-kinase(PI3k)/Akt pathway を介した telomerase 活性低下の検討

頭 司 敏 史 赤 木 将 男
近畿大学医学部整形外科学教室

血管内皮細胞において酸化低比重リポ蛋白 (酸化 LDL) 受容体として同定されたレクチン様酸化低比重リポ蛋白受容体-1 (LOX-1) の軟骨細胞での発現が示され, 酸化 LDL と軟骨変性の関連が示唆されている. 本研究の目的はウシ関節軟骨細胞において, 酸化 LDL により telomerase 活性が抑制され, 老化因子の一つである事を示し, さらにそれが PI3K/Akt pathway を介している事を証明する事である. 培養後70%コンフルエントとなった生後10ヶ月のウシの関節軟骨細胞を用い, 酸化 LDL を添加した上で telomerase 活性をストレッチ PCR 法 (TOYOBO, TeloChaser) にて経時的, 経容量的に測定した. 同時に抗 LOX-1 受容体抗体 (TS-20) を前処理に用いた抑制試験も行った. また, PI3k/Akt pathway が telomerase 活性低下に関与しているかを確認するためにこの pathway の inhibitor である LY294002, activator であるインスリン様成長因子-1 (IGF-1) を関節軟骨細胞に添加し, 同様に

telomerase 活性を測定した. その際 IGF-1 は酸化 LDL と同時に軟骨細胞に添加した. さらに酸化 LDL が PI3k/Akt pathway に及ぼす影響を検討するために酸化 LDL を添加しリン酸化 Akt (pAkt) を Western Blot 法にて検出した. 同時に TS-20前処理による抑制試験を行った. 酸化 LDL 添加により軟骨細胞において経時的及び経容量的に telomerase 活性の低下を認めた. この telomerase 活性の低下は TS-20前処理にて抑制された. LY294002添加により経容量的に telomerase 活性は抑制された. また IGF-1 存在下には酸化 LDL による telomerase 活性低下が回復した. 酸化 LDL 添加により pAkt は経時的に減少し, TS-20前処理にて回復した. 本研究によりウシ関節軟骨細胞において酸化 LDL により telomerase 活性の低下が示され, またそれが酸化 LDL と LOX-1 との結合を介していること, さらに PI3k/Akt pathway を介している可能性が示唆された.

2. 機械的ストレスによる軟骨障害に対するヒアルロン酸の軟骨保護作用

三 木 良 久 寺 村 岳 士 福 田 寛 二 浜 西 千 秋
近畿大学医学部整形外科学教室

変形性関節症の治療薬としてヒアルロン酸 (hyaluronan, HA) の関節内注入療法が広く使用されている. しかしその作用機序については不明な部分が多い. 我々の研究室では以前より変形性関節症の病因に, 局所における機械的ストレスが重要な影響を及ぼすことを報告するとともに, 活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) がその情報を伝達することを明らかにしてきた. そこで本研究では, HA の作用を機械的ストレスに対する軟骨代謝の側

面より検討することとした. すなわちウシ関節軟骨組織に圧迫負荷を加え, 基質合成能・ROS の産生などを計測した. その結果軟骨組織に対する圧迫負荷は, まず軟骨細胞における基質合成能を抑制し, ROS 産生を亢進させた. しかし HA は基質合成能を回復させるとともに, ROS 産生を明らかに抑制した. したがって, HA は抗酸化作用を発揮することにより, 軟骨保護作用を有することが示された.