

平成 19 年度科学研究費補助金実績報告書（研究実績報告書）

1. 機関番号

14603

2. 研究機関名 奈良先端科学技術大学院大学

3. 研究種目名 基盤研究 (B)

4. 研究期間 平成17年度 ~ 平成19年度

5. 課題番号

17390079

6. 研究課題名 TGF-βのシグナルを制御するHtrAセリンプロテアーゼファミリーの研究

7. 研究代表者

研究者番号	研究代表者名	所属部局名	職名
00195041	カワイチ, マサシ 川市, 正史	バイオサイエンス研究科	教授

8. 研究分担者(所属研究機関名については、研究代表者の所属研究機関と異なる場合のみ記入すること。)

研究者番号	研究分担者名	所属研究機関名・部局名	職名
30263445	オカ, チオ 岡, 千緒	バイオサイエンス研究科	助教
	フリガナ		
	フリガナ		

9. 研究実績の概要(国立情報学研究所でデータベース化するため、600字～800字で記入。図、グラフ等は記載しないこと。)

下欄には、当該年度に実施した研究の成果について、その具体的内容、意義、重要性等を、交付申請書に記載した「研究の目的」、「研究実施計画」に照らし、600字～800字で、できるだけ分かりやすく記述すること。また、国立情報学研究所でデータベース化するため、図、グラフ等は記載しないこと。

(1) HtrA1タンパク質分解酵素活性の特性を明らかにする: CHO細胞とレトロウイルスベクターを用いたタンパク質の大量産生システムを用いて、野生型とS372A活性欠損型の全長HtrA1タンパク質の産生を試みたが、IRESで発現させたGFPの発現量は高いにも関わらず、HtrA1タンパク発現量は両者とも非常に少なかった。CHO細胞に毒性を示すと考えられる。そこで、Pichia酵母を用いた発現を試みるため発現ベクターを作成した。

(2) HtrA1の細胞外基質タンパク質代謝における機能を明らかにする: I型コラーゲンα1鎖とHtrA1を293T細胞に共発現させると、I型α1鎖のN-及びC-プロペプチド部分が切断された分解産物が細胞抽出液中で検出された。S372A変異型のHtrA1を使うとこの分解産物は見られない。また、PDZドメインを欠くHtrA1では分解の著明な減少が見られた。これは、HtrA1が細胞内の分泌過程でPDZに依存してコラーゲン分子を分解する活性があることを示す。

(3) 関節炎発症におけるHtrA1の役割の解析: 間歇投与カルセイン沈着による造骨速度測定、およびCTスキャンでの骨密度測定を行ったところ、K0マウスで若干の低下が見られた。また、K0マウスでは幼若マウスの2次骨化中心の境界にある肥大軟骨細胞でオステオカルシン量の増大が見られた。同じ細胞で10型コラーゲンの産生量も増大していた。これは、後期の肥大軟骨層で石灰化が亢進していることを示唆し、HtrA1の欠損は軟骨での石灰化を促進する可能性が示された。抗コラーゲン抗体の注射により関節炎を引き起こしたところ、K0マウスと野生型で関節の腫脹の程度や組織像に差は見られなかった。より詳細な解析はHtrA1とHtrA3のダブルK0マウスを使って行う。

※ 成果の公表を見合わせる必要がある場合は、その理由及び差し控え期間等を記入した調書(A4 判縦長横書 1 枚)を添付すること。

10. キーワード

(1) HtrA1	(2) 変形性関節炎	(3) コラーゲン分泌
(4) C-プロペプチド	(5) 骨密度	(6) オステオカルシン
(7) 石灰化	(8) 肥大軟骨細胞	(裏面に続く)

11.研究発表（平成19年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計（ 0 ）件

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁

著 者 名	論 文 標 題			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発 行 年	最初と最後の頁

〔学会発表〕 計（ 0 ）件

発 表 者 名	発 表 標 題		
学 会 等 名	発表年月日	発 表 場 所	

〔図 書〕 計（ 0 ）件

著 者 名	出 版 社		
書 名			総ページ数

12. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

〔出 願〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別

〔取 得〕 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別

13. 備考

※ 研究者又は所属研究機関が作成した研究内容又は研究成果に関するwebページがある場合は、URLを記載すること。