

カルパイン (calpain) における関節軟骨破壊とその制御 — calpainによる分解産物を特異的に認識するモノクローナル抗体を使って—

岐阜大学医学部整形外科学 清水 克 時

1. 目 的

関節リウマチ(RA)や変形性関節症(OA)などの関節炎では、滑膜・関節液中のプロテアーゼが軟骨基質の主要成分であるプロテオグリカンやコラーゲンを分解し、関節軟骨が破壊される。このプロテアーゼとして近年軟骨代謝の分野では、MMPsやaggrecanaseなどのマトリックス分解酵素が広く知られている。一方で我々はRAやOAの関節で滑膜から関節液中に中性システインプロテアーゼであるカルパインが分泌されていること、またカルパインが強力な軟骨アグリカン分解活性を持つことを報告してきた。今回我々はカルパインによるアグリカン分解産物を特異的に認識するモノクローナル抗体(SK-28)を作製し、カルパインが関節炎へ関与することを明らかにした。

2. 方 法

実験はウシ関節軟骨より抽出した軟骨アグリカンを用いて、カルパインによるアグリカン切断部位であるGVA-AVPを特異的に認識するモノクローナル抗体(SK-28)を使用して、ウェスタンブロットにより行った。

3. 結 果

その結果、カルパインによるアグリカンの切断部位が少なくとも4箇所あることが明らかになった。またウシ関節軟骨中には

G1-G2-GVA⁷¹⁹フラグメントが存在することが明らかになり、このフラグメントの生成にカルパインが関与している可能性が強く示唆された。

現在までカルパインが実際にどの程度関節軟骨破壊に関与しているのか不明であったが、今回の実験によりカルパインがどのようにアグリカンの分解に関与するかが明らかになった。カルパインはカルシウム依存性の中性システインプロテアーゼで、従来細胞内プロテアーゼとして知られていたが、マトリックス分解酵素として細胞外でも機能していることが明らかになった。

<主論文公表誌>

Mature bovine articular cartilage contains abundant aggrecan that is C-terminally truncated at Ala719-Ala720, a site which is readily cleaved by m-calpain. *Biochemical Journal* 382:253-9, 2004