

“ ヒアルロン酸の生合成及び代謝の意義 ”
ヒアルロン酸代謝機構の解析とその生理的意義について

高橋 正明 (三共株式会社 探索研究所)

ヒアルロン酸 (HA) は、細胞外マトリックスの主要構成成分の一つである glycosaminoglycan である。HA は、embryonic development/morphogenesis、wound healing、repair and regeneration、inflammation など様々な生物現象に関与している。我々は、関節軟骨を構成する HA が、関節炎など軟骨破壊時に分解を受けることを見出し、関節疾患の治療という側面からその分子機構に興味を持ち、解析を続けてきた。

HA を分解する酵素、hyaluronidase (Hyal) として、精子に多く発現する PH20 の他に Hyal -1、-2、-3 の三種のアイソフォームが知られている。精子以外の細胞では、これら三種の Hyal が、HA 分解に関与していると考えられているが、これらの HA 分解機構については解析が進んでおらず、特に生体内での HA 代謝へのそれぞれの関与についても不明な点が多い。また、CD44 は、HA 受容体として知られており、Hyal の生体内での HA 分解に関与していることを示唆する報告はいくつかあるものの、Hyal 活性調節にどのような機構で解析されているかも不明な点が多い。

Hek293 細胞に、まず CD44 を恒常的に高発現する細胞を作成し (CD44/293)、ついでその細胞に、Hyal -1、-2、-3 遺伝子を導入した (CD44/Hyals/293)、これとは別に、CD44 を発現せず Hyals のみを恒常的に発現する細胞 (Hyals/293) を作成し、これら細胞での HA 分解活性を比較検討した。その結果、

- (1) Hyal -1、-2、-3 のみを発現させた細胞の HA 分解活性は、遺伝子導入していない細胞と変わらなかった。
- (2) CD44 の発現により、293 細胞の内因性の Hyal 活性が上昇し、細胞外および細胞内での HA 分解活性が上昇した。
- (3) Hyal -1 は、CD44 と共発現させた場合のみ細胞内の HA 分解活性が亢進し、細胞内に分解された低分子 HA の蓄積がみられた。一方で細胞外あるいは細胞表層での HA 分解に変化はみられな

かった。

- (4) Hyal-2 は、CD44 と共発現させた場合のみ、細胞表層での HA 分解活性が増大し、細胞外（培地中）に HA 分解物が多量に蓄積した。一方で、細胞内の HA 分解には変化がみられなかった。
- (5) CD44 発現細胞に、Hyal-1 と Hyal2 両方を発現させても、それぞれの分解ルートは独立しており、お互いの細胞内・細胞外 HA 分解活性に影響を与えなかった。
- (6) 上記の知見をもとに、Hyal-2 の enzyme assay 系を構築し、その性状を解析した。Hyal-2 の最適 pH は中性付近であった。また、酵素 assay 系においても、CD44 と複合体を形成していることが HA 分解活性に必要なだった。
- (7) Hyal-3 は、用いたいずれの条件においても HA 分解活性を示さなかった。

これらの結果より、Hyal-1 は、CD44 により細胞内に取り込まれた HA を細胞内で分解する、Lysosomal 型 Hyal であるといえる。また、Hyal-2 も CD44 依存的に HA を分解するが、その活性には、細胞表層で CD44 と直接的複合体を形成することが必要であり、CD44 に結合した HA を細胞表面で分解し、細胞外に放出する Hyal であると考えられる。Hyal-2 により分解された HA が、細胞内にとりこまれて Hyal-1 に分解する経路が提唱されているが、本結果は、Hyal-1 の細胞内 HA 分解と Hyal-2 による細胞表面での HA 分解経路は、お互い独立したものであることを示している。Hyal-3 は、CD44 以外の何らかの分子が必要か、HA 分解以外の役割をもつ可能性が考えられる。