

# 学位論文の要旨

三 重 大 学

所 属	三重大学大学院医学系研究科 甲 生命医科学専攻 病態修復医学講座 運動器外科学分野	氏 名	たけがみ のりひこ 竹上 徳彦
-----	---	-----	--------------------

## 主論文の題名

RANK/RANKL/OPG system in the intervertebral disc

## 主論文の要旨

### 【目的】

椎間板は中央部の髄核 (nucleus pulposus: NP) とその周囲の線維輪 (annulus fibrosus: AF)、また隣接する椎体と強固に連結する軟骨終板 (cartilaginous endplate: CEP) から構成されている。外因性または内因性因子によって椎間板内の微小環境が変化し、水分含量の減少や亀裂の増加、椎間板高の減少といった椎間板変性が発症し、interleukin (IL) -1, tumor necrosis factor (TNF) -alphaなどの炎症性サイトカインや、matrix metalloproteinase (MMP) などのタンパク分解酵素が椎間板変性を誘導していると考えられている。

Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANKL) は TNF superfamily に属し、破骨細胞分化因子として骨代謝の重要な働きを担っている。破骨細胞では RANK と RANKL が結合すると、TNF receptor-associated factor -6 を介して NF- $\kappa$ B を活性化し、炎症性サイトカインの発現を誘導し、骨基質成分の分解に関与する。Osteoprotegerin (OPG) は RANKL に対する decoy receptor である。近年、関節軟骨組織など骨代謝領域以外においても RANK/RANKL/OPG 系の発現および組織変性との関連性が報告されている。RANKL と OPG についてはヒト椎間板での発現が報告され、椎間板変性の進行との関連性が示唆されているが、詳細な報告はない。

我々は RANK/RANKL/OPG が椎間板変性に関与していると仮説した。本研究の目的は、ラットおよびヒト椎間板での RANK/RANKL/OPG 系の発現を検討し、ラット椎間板基質代謝における RANKL の機能解析を行うことである。

### 【方法】

Sprague-Dawley ラット (12 週齢、雄) を用いた。

- ① 正常ラット椎間板組織での RANK/RANKL/OPG 系の免疫組織学的検討: ラット腰椎のパラフィン切片を作製し、抗 RANK, RANKL, OPG 抗体を用いて免疫組織学的検討を行った。
- ② ラット椎間板培養細胞での RANK/RANKL/OPG 系の免疫組織学的検討: ラット胸

発現を初めて確認し、RANK/RANKL/OPG 系が基質代謝に及ぼす影響を調査した。IL-1 $\beta$  刺激によって NP、AF、CEP 細胞の RANKL の発現量は増加した。また RANKL 単独投与では炎症性サイトカインやタンパク分解酵素の発現量に有意な変化は認めなかったが、IL-1 $\beta$  存在下に RANKL を投与すると、炎症性サイトカインやタンパク分解酵素の発現量は有意に増加した。本研究のヒト椎間板組織での RANK/RANKL/OPG 系の発現の比較検討は、過去の RANKL や OPG の報告と同様であったが、RANK については本研究が初めての報告である。

変性椎間板という炎症性サイトカインが豊富な微小環境下においては、RANKL の発現が増強されることが推測される。すなわち RANK/RANKL/OPG 系は炎症性サイトカインと相互作用する事により椎間板変性の進行に関与している可能性を考えた。