

学位論文審査結果の要旨

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	竹上 徳彦
審 査 委 員	主 査 鈴木 秀謙 副 査 島岡 要 副 査 成田 正明		
<p>(学位論文審査結果の要旨)</p> <p>RANK/RANKL/OPG system in the intervertebral disc</p> <p>【主論文審査結果の要旨】</p> <p>著者らは論文において下記の内容を述べている。</p> <p>【背景】</p> <p>Receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) は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。近年、関節軟骨組織など骨代謝領域以外においても RANK/RANKL/osteoprotegerin(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。</p> <p>【目的】</p> <p>本研究は、椎間板における RANK/RANKL/OPG 系の発現を検討し、椎間板基質代謝における RANKL の機能解析を行うことを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>まず Sprague-Dawley ラット (12 週齢、オス) の正常椎間板組織および椎間板培養細胞における RANK/RANKL/OPG 系の免疫組織学的検討を行い、発現を確認した。</p> <p>次にラット椎間板培養細胞において、定量的 polymerase chain reaction (PCR) 法を用いて RANK/RANKL/OPG の mRNA レベルでの発現を確認した。また変性椎間板の微小環境を模倣する目的で in vitro 系において interleukin-1β (IL-1β)刺激を加え、RANK/RANKL/OPG の発現量の変化を検討した。RANK、OPG の mRNA 発現量は、IL-1β 刺激では髄核細胞でのみ上昇したが、その程度は軽度であった。一方で RANKL の発現量は、椎間板細胞 (髄核、線維輪、軟骨終板細胞) において濃度依存性に有意な増加を認めた。</p> <p>次に RANKL の機能解析を行う目的で、IL-1β および RANKL 刺激下での炎症性サイトカインや蛋白分解酵素の発現量の変化を検討した。IL-1β、MMP-3、MMP-13 の発現量は、RANKL のみの単独投与では有意な変化は認めなかったが、IL-1β 存在下に RANKL を投与するとその発現量は大きく上昇した。</p>			

最後にヒト椎間板組織において RANK/RANKL/OPG 系の発現と椎間板変性度の関連性を検討した。手術時に採取したヒト椎間板組織 (MRI 変性度分類: Pfirrmann grade 2-4) を用いて免疫染色を行い、全細胞数に対する陽性細胞率を評価した。変性度が上がると RANK や OPG の陽性細胞率は軽度の増加を認めた。一方で RANKL の陽性細胞率は変性度と共に著しく増加していた。

【結果】

本研究では、正常椎間板に RANKL のみの投与では炎症性サイトカインや蛋白分解酵素などの異化作用因子の発現量に変化は認めなかった。過去の報告では、軟骨細胞において RANK 陽性細胞が少ないことが RANKL 刺激の効果が乏しいことに関与しているとしている。また RANK には複数の isotype が存在し、RANKL との親和性が低いものも存在するとの報告もある。椎間板においても RANK/RANKL/OPG 系は恒常的に発現しているが、正常環境においては RANK-RANKL の結合は乏しい可能性が考えられた。一方で炎症性サイトカインが豊富な環境下にある変性椎間板においては、IL-18 によって RANKL の発現が上昇され、異化作用因子の発現が促進されることが考えられた。

以上より、椎間板においても RANK/RANKL/OPG 系が発現しており、また炎症性サイトカインと相互作用することにより椎間板変性の進行に関与している可能性が考えられた。

本研究は、RANK/RANKL/OPG 系の発現と椎間板変性の関与を示唆した論文であり、学術上極めて有益であり、学位論文として価値あるものと認めた。

Arthritis Research & Therapy (2017)19:121

Published online: June 2, 2017

doi: 10.1186/s13075-017-1332-y

Norihiko Takegami, Koji Akeda, Junichi Yamada, Tomohiko Sano,
Koichiro Murata, Jenny Huang, Koichi Masuda and Akihiro Sudo