

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 乙 生命医科学専攻 臨床医学系講座 運動器外科学・腫瘍集学治療学分野	氏 名	やまだじゅんいち 山田淳一
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>Expression of glial cell line-derived neurotrophic factor in the human 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>【目的】椎間板変性と腰痛には強い関連性があり、神経栄養因子は椎間板性疼痛の発現に関与すると考えられている。神経栄養因子は nerve growth factor (NGF)などの neurotrophin family と glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) などの GDNF family ligands family に大別される。GDNF は中枢・末梢神経系の他、神経系以外の組織においても発現し、疼痛伝達に関与すると考えられている。しかし、ヒト椎間板に GDNF 及びその受容体が発現するかは調べられていない。本研究の目的はヒト椎間板細胞における GDNF 及びその受容体 GDNF family receptor alpha-1 (GFRα1)、rearranged during transfection (RET)の発現を調べ、炎症性サイトカイン刺激による発現の変化を検討すること、ヒト椎間板組織において椎間板変性度と GDNF、GFRα1、RET の発現との関連を調べることである。</p> <p>【方法】腰椎固定術で得られたヒト椎間板組織を線維輪(AF)及び、髄核(NP)に分離し単層培養を行った。GDNF 及びその受容体の messenger ribonucleic acid (mRNA)発現は real time-polymerase chain reaction (PCR)法にて評価し、タンパク質発現は、蛍光免疫染色及び Western blot にて評価した。さらに、interleukin (IL)-1β (0、0.1、1、10 ng/ml) 投与下における mRNA 発現量の変化を real time-PCR 法にて評価した。腰椎手術時に摘出したヒト椎間板組織を magnetic resonance imaging の変性度に応じて変性初期群、変性進行群と分類した。パラフィン切片を作製し、抗 GDNF、GFRα1、RET 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、AF、NP 組織での陽性細胞率を両群間で比較検討した。</p>			

【結果】GDNF、GFR α 1、RETの mRNA 発現は real time-PCR 法にて、タンパク質発現は蛍光免疫染色及び Western blot にて確認された。IL-1 β 投与下では GDNF の mRNA 発現量は AF、NP 細胞ともに濃度依存性に上昇し、IL-1 β 10 ng/ml 群と対照群の間に有意差を認めた(P<0.05)。一方、GFR α 1、RET の mRNA 発現量は IL-1 β 刺激により明らかな変化を示さなかった。ヒト椎間板組織の変性進行群では AF 及び NP 組織ともに GDNF 陽性細胞率が変性初期群と比較し、統計学的に有意に高かった(P<0.05)が、GFR α 1、RET では両群間に有意差を認めなかった。

【考察及び結論】本研究では初めてヒト椎間板において GDNF とその受容体の発現を確認した。AF、NP 細胞における GDNF の mRNA 発現は IL-1 β 刺激により促進されたが、受容体の mRNA 発現の変化はなかった。同様に変性進行群の AF 及び NP 組織では GDNF 発現が亢進していた。炎症性サイトカインが異常発現している変性椎間板内の微小環境下では、GDNF の発現が増強していることが考えられる。GDNF は神経伸長に関与するほか、末梢組織での疼痛発現に関与するタンパク質であり、変性椎間板組織における GDNF の発現は腰痛の発症に関与している可能性がある。

本研究は初めてヒト椎間板において GDNF とその受容体の発現を確認した論文であり、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。

Spine

Received: November 21, 2019

Accepted: December 27, 2019

Doi: 10.1097/BRS.00000000000003418

Junichi Yamada, MD, Koji Akeda, MD, PhD, Tomohiko Sano, MD, Tatsuya Iwasaki, MD, Norihiko Takegami, MD, PhD, Akihiro Sudo, MD, PhD