

学 位 論 文 の 要 旨

所 属	三重大学大学院医学系研究科 生命医科学専攻病態解明医学講座	氏 名	岡村 直樹
主論文の題名 Deficiency of tenascin-C delays articular cartilage repair in mice			
主論文の要旨 【目的】 関節軟骨の自己修復能は低く損傷後の軟骨変性は不可避である。軟骨修復を促進する物質の研究はあるものの臨床応用には至っておらず、変性を抑制する治療もない。われわれは主に胎生期に発現する細胞外基質糖蛋白であるテネイシンC (TN-C) に注目した。成熟関節軟骨においてTN-Cの発現はほとんどなく、変形性関節症(OA)や損傷軟骨で再発現するがその機能については不明である。今回われわれはTN-Cノックアウトマウス(TNKO)を用いて軟骨修復及びOA膝におけるTN-Cの機能を検討した。 【方法】 使用したマウスはワイルドタイプマウス(WT)、TNKOとも全てBALB/cマウスであり、Mann-Whitney U-testを用いてWTとTNKOを統計学的に評価した。 ①両群のマウスを8週齢、24週齢で屠殺し、外見적인相違及び全身レントゲン撮影による骨格の評価、体重及び尾長を測定した。また12の組織(脳・膝関節・脊椎・脊髄・腎・肝・心臓・肺・皮膚・長管骨・筋・成長軟骨板)を採取して両群の組織学的な相違を評価した。 ②両群のマウスを生後2・4・6・12ヶ月で屠殺し、大腿骨顆部を採取した。これらの組織を固定・脱灰した後切片を作成した。各切片をヘマトキシリン・エオジン(HE)染色・サフラニンO(Saf-O)染色・TN-C免疫染色し、加齢性変化を修正Mankin scoreを用いて定量化した。 ③両群の8週齢マウスの前十字靱帯及び内側側副靱帯を切離して不安定膝モデルを作成した。術後1・2・4週で屠殺し、大腿骨顆部を採取した。HE染色・Saf-O染色・TN-C免疫染色を行い、不安定膝における変性過程を修正Mankin scoreを用いて定量化した。 ④両群の8週齢マウスの大腿骨顆部に0.3mm径の全層軟骨欠損を作成した。術後1日・1・2・3・6・12週で屠殺し、大腿骨顆部を採取した。HE染色・Saf-O染色・TN-C免疫染色を行い、全層軟骨欠損の修復過程を修正WAKITANI scoreを用いて定量化した。 【結果】 ①8週齢、24週齢とも外見적인相違及び骨格の相違はなかった。体重・尾長も8週齢・24週齢で有意差は認められなかった。12の組織においても組織学的に相違はなかった。 ②生後2～6ヶ月では相違は認められなかったが生後12ヶ月になるとTNKOでは軟骨の強い変性を認めた。定量評価すると生後2～6ヶ月では有意差が認められなかった。しかし生後12ヶ月では有意差を認めた。 ③術後1～2週では両群に組織に相違は認められなかったが、術後4週ではTNKOに変性を認めた。定量評価すると術後1週では有意差はなかったが、術後2週・4週では有意差を認めた。 ④WTでは術後1週よりTN-Cの発現を認め、術後3週になると欠損部は肥厚した軟骨様組織で埋め尽くされ、その最表層にのみTN-Cの発現を認めた。術後6週になると肥厚した軟骨様組織は正常の厚さとなり、TN-Cはほぼ消失した。一方、TNKOでは軟骨様組織での修復はなく線維組織で覆われた。定量評価すると術後1週では有意差なく、術後2週・3週・6週・12週では有意差を認めた。 【考察】 TN-Cは組織リモデリングにおいて多くの細胞間の機能を調節することが知られているにも関わらずTNKOとWTは相違がないと報告されてきた。本結果からもBALB/cマウスのWTとTNKO			

(注) 2, 000字以内にまとめて記入すること。

は相違は認められなかった。これまでOAにおいてTN-CはSaf-Oの消失した部位に一致して再発現することが報告されている。またわれわれはレントゲン像でのOA重症度に相関して関節液中のTN-C濃度が増加することを報告した。このようにTN-Cは関節軟骨の変性において重要な役割をしていることが示唆されるがその機能については明らかにされていない。

関節軟骨は炎症性サイトカインにより障害されOAが進行することが知られている。またこれらサイトカインがTN-Cをup-regulateすることも報告されている。われわれはOAの培養軟骨細胞においてTNF- α がNF- κ BのRelAを活性化することでTN-Cの発現がup-regulateされることを明らかにした。RelAは細胞増殖に関わることが明らかにされており、TN-Cも様々な細胞において増殖を促進させることが知られている。これよりTN-CがNF- κ Bを介して軟骨細胞の増殖を促進していることが考えられる。また、TN-Cは間葉系細胞の凝集を促進することで軟骨形成を促進することがin vitroにて明らかにされている。今回われわれは、TNKOは加齢及び不安定膝において変性が早期に進行すること、そして全層軟骨欠損においては修復が起こらないことを明らかにした。TN-Cは軟骨の変性を抑制し、軟骨を修復させる機能をもつことを強く示唆する結果であった。

【結語】

TNKOは加齢とともに変性しやすく、不安定膝においても早期に変性が進行すること、そして全層軟骨欠損では修復がおこらないことが明らかとなり、TN-Cは軟骨変性を抑制し、修復させる機能を持つことが示唆された。