

高田 興志 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

関節軟骨変性の進行における小胞体ストレスの関与
(The Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress in the Progression of Articular Cartilage Degeneration)

関節軟骨の変性は軟骨細胞アポトーシスと軟骨代謝の異常によって進行する。小胞体ストレスは細胞にアポトーシスを誘導することで様々な疾患に関与することが明らかにされているが、軟骨変性との関連性の詳細は不明である。本研究では、ヒト変形性関節症、ヒト培養軟骨細胞、およびラット変形性関節症モデルを用いて、軟骨変性の進行、軟骨細胞アポトーシス及び軟骨代謝に対して、小胞体ストレスがどのように関与するかを検討した。

変形性膝関節症患者から採取した変性軟骨、またはラット変形性関節症モデルの変性軟骨において、小胞体ストレス関連分子であるリン酸化 PERK (pPERK)、ユビキチン (Ub)、GRP78、CHOP およびリン酸化 JNK (pJNK) の発現、CHOP mRNA 発現及び XBP1 mRNA スプライシングをそれぞれ免疫染色、real-time PCR 法および RT-PCR 法で解析し、cleaved caspase-3 に対する免疫染色と TUNEL 染色を行い、軟骨細胞アポトーシスを検出した。また、ヒトおよびラットの培養軟骨細胞を小胞体ストレス誘発剤である tunicamycin で刺激して細胞アポトーシスを ELISA で評価し、CHOP、アグリカン、II 型コラーゲン及び MMP-13 の mRNA 発現と XBP1 mRNA スプライシングをそれぞれ real-time PCR と RT-PCR で解析した。

ヒト変性軟骨では変性度の増加と共に pPERK、Ub、CHOP、pJNK の陽性細胞率と CHOP mRNA 発現が増加した。XBP1 mRNA スプライシングは中等度の変性軟骨で増加したが、重度の変性軟骨では中等度よりも低下した。ラット変性軟骨においても変性の進行と共に pPERK、GRP78、CHOP 発現が増加した。ヒト変性軟骨の軟骨細胞アポトーシスは pPERK や CHOP と同様に変性度と相関して増加し、pPERK を発現する TUNEL 陽性の軟骨細胞が確認された。ヒト、ラットともに培養軟骨細胞では tunicamycin の濃度依存的に CHOP mRNA 発現とアポトーシスが増加したが、高濃度の tunicamycin では XBP1 mRNA スプライシングは減弱した。また、tunicamycin はアグリカンと II 型コラーゲンの mRNA 発現を抑制し、MMP-13 の mRNA 発現を増加した。

以上の結果から、小胞体ストレスは軟骨変性の進行と共に増加し、軟骨細胞アポトーシスと軟骨代謝の異常に関与することが示唆された。また、小胞体ストレスによる軟骨細胞のアポトーシス誘導には小胞体ストレス応答の保護的経路の低下とアポトーシス経路の増大が関与することが推測された。

審査では、変形性関節症の発症機構、変性軟骨組織の可逆性、軟骨変性と軟骨再生の関係、手術適応と検体採取部位、軟骨内サイトカインの由来、軟骨肥大における小胞体ストレスの意義、変性蛋白質の軟骨細胞へと至る経路、軟骨細胞変性像が軟骨表層から進行する機序、小胞体ストレスを示した軟骨細胞領域の病変重症化に伴う移動の機序、小胞体ストレスの治療的な軽減法、軟骨細胞の同化作用と異化作用の切替機構、ラット実験系のヒト変形性関節症モデルとしての適切性、ラット実験モデルでの術後管理と病変進行の関係、軟骨細胞アポトーシス誘発における小胞体ストレスの重要度、XBP1 mRNA スプライシング検出方法、TUNEL 法と小胞体ストレス関連因子との二重免疫染色法、頸椎症における小胞体ストレスの意義、などに対して質疑応答が行われ、申請者からは適切な回答が得られた。

本研究は、小胞体ストレスが軟骨細胞アポトーシスを介して軟骨変性に関与する事を示し、変形性関節症形成機構の側面を示した有意義な研究であり、学位に相応しい研究と評価された。

審査委員長 機能病理学担当教授

伊藤隆明

審査結果

学位申請者名：高田 興志

分野名またはコース名：運動骨格病態学分野

学位論文題名： 関節軟骨変性の進行における小胞体ストレスの関与

(The Involvement of Endoplasmic Reticulum Stress in the Progression of Articular Cartilage Degeneration)

指 導：

水田 博志 教授

判 定 結 果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成23年2月9日

審査委員長 機能病理学担当教授

審査委員 分子生理学担当教授

審査委員 代謝内科学担当教授

審査委員 脳神経学担当教授

伊藤 隆明

富澤 一仁

荒木 栄一

倉津 純一