

審査の結果の要旨

氏名 筑田博隆

本研究は、矮小動物モデルである MRI ラット(Miniature Rat Ishikawa)の病態を解析し、骨格成長・再生のプロセスの解明を目指したものであり、下記の結果を得ている。

1. MRI ラットでは、頭蓋の形成や長管骨の横径成長には異常がないが、骨格の長軸成長が障害されており、内軟骨性骨化に特異的な異常が存在することが示された。骨形態計測による評価では、骨代謝に著明な異常はないことが示された。
2. MRI ラットの成長軟骨板の組織学的検討においては、成長軟骨細胞の肥大化が減弱していることが示された。さらに BrdU の取り込み実験の結果から、肥大細胞層の上には、増殖を停止しているにもかかわらず、分化を開始していない特異な細胞層が存在していることが示された。MRI ラットでは軟骨細胞の増殖の停止と分化の開始が同期しておらず、増殖層から肥大細胞層への移行が障害されていることが示された。
3. 脛骨骨折モデルを作成し、骨折治癒過程における骨再生について検討したところ、MRI ラットにおいては、骨折治癒過程においても軟骨細胞の肥大化がみられず、内軟骨性骨化が遅延していることが示された。
4. 成長軟骨板より軟骨細胞を単離培養し、増殖能と分化能を評価した。増殖能の評価は、MTT アッセイとチミジンの取り込み実験によりおこなった。この結果、MRI ラット由来の軟骨細胞では、**population doubling time** が野生型にくらべ約 75%に短縮しており、増殖が軽度亢進していることが示された。一方、アルシアンブルー染色、アルカリフォスファターゼ染色による評価では、MRI ラット由来の軟骨細胞において分化障害がみられることが示された。また、**BMP-2** を添加すると MRI ラット由来の軟骨細胞においても分化が観察されることから、分化するポテンシャルは保持していることが示された。共存培養の結果からは、MRI ラット由来の軟骨細胞から、軟骨分化を抑制する液性因子が分泌されている可能性があることが

示された。

以上、本論文は新規の矮小動物モデルラットについてその病態が成長軟骨の分化異常による内軟骨性骨化の障害であることを明らかにした。さらに軟骨細胞の増殖の停止と分化の開始の同期が障害されている点を明らかにした。本研究はこれまで未知であった骨格成長のメカニズム、特に軟骨細胞の増殖と分化の関連の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。