

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 永井 博文

塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) は、骨および軟骨系培養細胞の増殖を促進する一方、その分化に対しては抑制的に作用する事が知られている。また、軟骨無形成症患者および遺伝子改変マウスでの知見から、FGF-2シグナルの骨格形成における重要性が指摘されている。本研究は、FGF-2を静脈内投与した場合の骨形成に及ぼす影響について、形態学および形態計測学的検討を行ったものである。

まず、FGF-2 (0.3 mg/kg) を7日間投与した若齢ラットの骨組織の経時的変化について形態学的に検討した。1回投与後には骨内膜面に未分化間葉系細胞の増殖が、3回投与後には細胞増殖巢内に帯状の線維性骨形成が認められた。5および7回投与後には骨内膜面に厚い海綿骨が形成され、投与終了7および14日後には海綿骨の緻密骨への置換による皮質骨幅の顕著な肥厚がみられた。

次に、FGF-2 (0.1 または 0.3 mg/kg) を7日間投与した若齢ラットの骨組織について形態計測学的に検討した。0.1 mg/kg 投与ラットでは、成長板の内軟骨骨化促進、骨幹端海綿骨量の増加、骨幹部における骨内膜骨形成の促進および骨量の増加、骨膜の骨形成低下が認められた。一方、0.3 mg/kg 投与ラットでは、骨膜骨形成の低下に加えて、骨内膜における石灰化障害ならびに成長板の肥厚、長軸方向の成長速度の低下、軟骨細胞産生速度の低下が認められた。

さらに、老齢ラットおよび低回転型骨粗鬆症モデルマウスであるSAMP6におけるFGF-2の骨形成促進作用について検討した。FGF-2 (0.3 mg/kg) を2週間投与した71週齢のラットの骨組織について組織学的に検査した結果、若齢ラットと同様に、骨内膜面に限局して顕著な海綿骨の形成が認められた。SAMP6を用いた検討では、5週齢時にFGF-2 (0.1および0.3 mg/kg) を7日間投与し、骨形態計測学的に検査した。0.1 mg/kg 投与では、成長板に変化はなく、骨幹部骨内膜では骨形成の促進がみられたが、骨量の有意な増加はなかった。0.3 mg/kg 投与では、若齢ラットと同様の内軟骨骨化障害が認められた。骨幹部骨内膜では骨形成の促進および骨髄骨量の増加が認められたが、骨膜では骨形成の低下がみられた。

最後に、若齢ラットおよびSAMP6でみられたFGF-2の高用量投与による内軟骨骨化障害機序を明らかにする目的で、若齢ラットにFGF-2 (0.3 mg/kg) を7日間投与し、

成長板の変化について形態学および免疫組織化学的に検討した。FGF-2投与ラットの肥厚した成長板の大半は肥大軟骨細胞で占められていた。成長板最下層の軟骨細胞は扁平化し、配列の乱れを示す部位が観察された。軟骨・骨接合部における破骨細胞数に変化はなかったが、肥大軟骨層への血管進入および破骨細胞による軟骨基質吸収は阻害され、成長板軟骨小柱と骨幹端一次海綿骨との連続性が失われていた。免疫組織化学的には、増殖細胞核抗原（PCNA）陽性細胞数は明らかに増加し、X型コラーゲンの発現は維持されていたことから、軟骨細胞の増殖は促進され、その肥大軟骨細胞への分化も障害されていないことが明らかとなった。成長板軟骨細胞の最終分化マーカーであり強力な軟骨基質コラーゲン分解活性を有する3型コラーゲナーゼ（MMP-13）は、対照動物では肥大軟骨層最下層の軟骨細胞で特異的に発現していた。FGF-2投与ラットの内軟骨骨化障害を示す部位ではMMP-13の発現が消失していた。したがって、FGF-2は肥大軟骨細胞におけるMMP-13の発現低下を介して肥大軟骨層への血管侵入および軟骨基質吸収を阻害しているものと推察された。

以上の成績から、FGF-2は骨髄間葉系細胞の増殖とその骨芽細胞への分化を促進することにより、骨内膜面に局限して骨形成を誘導するものと考えられた。同様の骨形成促進作用は、老齢ラットおよびSAMP6においても認められたことから、FGF-2投与が低回転型骨粗鬆症における骨量増加に寄与し得る可能性が示された。一方、FGF-2の高用量投与によって生じる内軟骨骨化障害は、FGF-2の軟骨細胞増殖促進作用に加えて、肥大軟骨層最下層の軟骨細胞におけるMMP-13の発現の抑制に起因した変化である可能性が示唆された。

本研究の成果は、FGF-2を静脈内投与した場合の骨形成に及ぼす影響の詳細を明らかにし、FGF-2の骨軟骨形成促進薬としての可能性を示したのみならず、FGF-2シグナルの過剰による内軟骨骨化障害の病理発生を考える上での基礎知見としても重要であると考えられた。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文に値するものと判定した。