

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 山田 高嗣

本研究は、軟骨特異的新規遺伝子 Cystatin 10 (Cst10) の生体内機能を明らかにするため、Cst10 遺伝子欠損マウス (Cst10KO マウス) を作出し、骨組織・軟骨組織の解析を行い、さらに病的状態における Cst10 の機能解析として、骨折実験・変形性関節症モデル作製実験、異所性石灰化モデル作製実験を行って、下記の結果を得ている。

1. 骨組織の解析：Cst10KO マウスの長管骨の組織学的解析により、成長板近傍の一次海面骨の減少が明らかとなり、これは長管骨の 20 分割した骨密度や、成長板周囲の 3 次元 CT によっても確認された。
2. 軟骨組織の解析：成長板全体の厚みは、野生型 (WT) マウスと KO マウスで大きな差が見られなかったにも関わらず、肥大軟骨細胞層における石灰化障害が von Kossa 染色により明らかとなり、この成長板下端での石灰化障害が、一次海面骨量の減少を引き起こしていると考えられた。Cst10KO マウスでは、X 型コラーゲンの免疫染色でも、WT マウスとの間に染色パターンの大きな差は見られなかったが、マウスの脛骨近位成長軟骨板から

軟骨細胞を単離し培養する実験系において、軟骨細胞の後期分化を反映する Alkaline phosphatase 染色や基質の石灰化を反映する Alizarin red 染色で、KO マウスにおいて染色性が低下していたことから、主に肥大軟骨細胞において発現している Cst10 は、実際の生体内では細胞の最終分化の促進、軟骨基質の石灰化に関与していることが明らかとなった。

3. 病的状態における Cst10 の機能解析：内軟骨性骨化が関与すると考えられる、骨折治癒過程・変形性関節症における骨棘形成・高齢化による異所性石灰化のモデルにおいても、Cst10KO マウスでは WT マウスに比し石灰化の低下が認められた。

以上、本論文は軟骨特異的新規遺伝子 Cst10 の生体内機能を Cst10 遺伝子欠損マウスを用いて明らかにしたものである。本研究はこれまで未知に等しかった軟骨細胞の基質石灰化機能の解明、骨折治癒や変形性関節症、異所性骨化に対する今後の臨床応用に向けた更なる研究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。