

審査の結果の要旨

氏名 阿久根 徹

本研究では、まず第1章において、脊椎後縦靭帯骨化症(OPLL)と糖代謝関連因子との関係を明らかにすることを目的に、OPLL患者の臨床データを用いて相関分析、重回帰分析、分散分析をおこなったものであり、続いて第2章では、インスリン/IGF-I情報伝達分子の一つインスリン受容体基質-2を介するシグナルによる骨代謝調節作用メカニズムを解明する目的で、インスリン受容体基質-2遺伝子欠損マウスを用いて、*in vivo*および*in vitro*における解析をおこなったもので、下記の結果を得ている。

1. OPLL患者におけるOPLL罹患椎体数(OPLL骨化傾向)は、年齢および肥満度と関連があった。
2. 糖代謝の各指標とOPLL骨化傾向との関係についての検討では、OPLL骨化傾向は、糖尿病の程度を問わず空腹時血糖値やヘモグロビンA1c値とは関係がなく、その一方、インスリン分泌の指標であるところのインスリン反応性インデックスと有意な正の関連を有していた。
3. 75g OGTTによる耐糖能分類とOPLL骨化傾向およびインスリン反応性インデックスとの関係では、OPLL骨化傾向は糖尿病型に属する者よりも正常型や境界型に属する者において高値であり、また、正常型、境界型に属する者の中でOPLL骨化傾向が高い者は、ほぼ全例インスリン反応性インデックスが平均値以上であった。
4. 以上の結果より、OPLL骨化傾向は糖代謝の指標の中で、インスリン反応性インデックスで示されるインスリン分泌反応性と強く関連し、軽度耐糖能障害がありインスリン抵抗性を代償すべく高濃度のインスリン分泌がおこなわれている者ほどOPLL骨化傾向が高いことが明らかとなった。インスリンは糖代謝調節ホルモンとしての役割以外に骨形成因子として骨同化作用を有しており、インスリン分泌が亢進した結果、高濃度の血中インスリンが後縦靭帯組織内に存在するosteoprogenitorに作用し、脊椎後縦靭帯骨化を促進する可能性が示された。
5. 続いて本研究第2章でおこなったインスリン受容体基質-2(IRS-2)を介するシグナルの骨代謝調節作用メカニズムに関する検討において、IRS-2遺伝子欠損マウス(IRS-2^{-/-}マウス)の骨組織の解析から、*in vivo*において、IRS-2^{-/-}マウスは野生型(WT)に比べて10-15%の骨密度低下を伴う骨量減少を示すことが明らかとなった。組織学的検討よりIRS-2^{-/-}マウス骨組織では破骨細胞数増

加による骨吸収の増加が見られる一方で、骨芽細胞による石灰化速度の低下と骨形成速度の低下による骨形成の低下が見られることが明らかとなった。

6. *in vitro* における骨形成能の検討を WT および *IRS-2*^{-/-}培養骨芽細胞を用いて行ったところ、細胞増殖能には両者で差がなかったが、分化能および基質合成能が *IRS-2*^{-/-}骨芽細胞で低下し、*IRS-2* 欠損により骨芽細胞の分化能、基質合成能が低下することが示された。
7. *in vitro* における骨吸収能の検討を WT および *IRS-2*^{-/-}由来の骨芽細胞と骨髓細胞の共存培養系で行ったところ、破骨細胞分化能と骨吸収活性のどちらも、破骨細胞支持細胞であるところの骨芽細胞の由来が *IRS-2*^{-/-}であるときに限り亢進し、破骨細胞の progenitor である骨髓細胞の由来とは関係なかった。従って骨吸収能の増加は破骨細胞支持機能をなす骨芽細胞における *IRS-2* 欠損により生じることが明らかとなった。
8. 骨芽細胞における RANKL の発現をノーザンブロット法により検討したところ、WT に比べ *IRS-2*^{-/-}骨芽細胞では RANKL 発現の亢進が見られた。この RANKL 発現の亢進および骨芽細胞による破骨細胞形成支持能の亢進はアデノウィルスベクターを用いた *IRS-2* 遺伝子導入により正常化することが示された。従って *IRS-2*^{-/-}マウスにおける骨吸収の増加は *IRS-2*^{-/-}骨芽細胞における RANKL 発現レベルの増加を伴う破骨細胞支持機能の亢進により生じることが示された。
9. 以上より、*IRS-2* シグナルは骨芽細胞において、骨形成の促進と破骨細胞支持機能抑制による骨吸収の抑制に作用していることが示され、骨代謝調節機構において、*IRS-2* は骨芽細胞における骨吸収に対する骨形成の優位性を維持する役割を果たしていることが明らかとなった。

本研究では、これまで未知であった脊椎後縦靭帯骨化症の骨化傾向と糖代謝関連因子の検討より、脊椎後縦靭帯骨化の促進にインスリンシグナルが関与することを明らかにしたもので、その発生や増大のメカニズムがこれまで未知で抑止手段がない難治性疾患、脊椎後縦靭帯骨化症の病態メカニズムの解明に重要な貢献をなすものと考えられる。また、インスリン情報伝達分子 *IRS-2* を介するシグナルの骨代謝調節作用メカニズムの検討では、*IRS-2* を介するシグナルが骨芽細胞における骨形成促進と骨吸収抑制作用により、骨芽細胞における骨同化作用の優位性を維持していることを解明し、これまで未知に等しかったインスリン/*IGF-I* 情報伝達系の細胞内における骨代謝調節メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。