

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 稲木 涼子

本研究は、再生軟骨を取りまく線維組織におけるペリオスチンの機能解明ならびに再生医療での活用を目的として、遺伝子欠損マウスを用いた解析とペリオスチン含有再生軟骨の検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 移植後の再生軟骨組織におけるペリオスチンの経時的な変化を確認したところ、移植後初期では再生軟骨を囲む外周線維組織にペリオスチンが局在し、後期では再生軟骨領域間の介在線維組織において、ペリオスチンが局在することが確認された。共にCOL1陽性の線維性組織で、ペリオスチンはI型コラーゲンと共局在していることが組織学的所見から示された。
2. 野生型 ($Pn^{+/+}$) および遺伝子欠損 ($Pn^{-/-}$) マウスを用いて、ペリオスチン欠損が再生軟骨移植に及ぼす影響を評価したところ、 $Pn^{+/+}$ 由来再生軟骨では介在線維組織にペリオスチンが発現し、豊富な軟骨基質を再生したが、 $Pn^{-/-}$ 由来では介在線維組織にペリオスチンを欠き、軟骨再生は乏しかった。一方、再生軟骨を $Pn^{+/+}$ および $Pn^{-/-}$ マウスに移植すると、 $Pn^{+/+}$ 移植では外周線維組織にペリオスチンが発現し再生軟骨の3次元形状は維持されたが、 $Pn^{-/-}$ 移植では外周にペリオスチンを欠き、再生組織の形態維持は困難となり、外部へ広がる不整形を呈した。以上より、ドナー由来のペリオスチンは内部介在線維組織に局在し軟骨の基質形成に関わり、ホスト由来のペリオスチンは外周線維組織に局在し再生軟骨の形態維持へ関与することが示唆された。
3. 共局在するコラーゲンとペリオスチンの相互作用を評価するべく、in vivoでは $Pn^{+/+}$ および $Pn^{-/-}$ マウスの線維性組織の比較、in vitroではペリオスチン添加に伴うコラーゲンの変化を評価した。in vivoでは、 $Pn^{-/-}$ マウスにおいてペリオスチン欠損に伴う線維組織の脆弱化が観察され、再生軟骨移植時の形状不整形所見と一致したが、外周線維へのペリオスチン添加により再生組織の形状不整形に改善が認められた。実際in vitroで、ペリオスチン添加によりコラーゲングルの力学強度は向上し、電子顕微鏡像からはコラーゲン分子の会合促進と線維性の高次構造変化が確認された。
4. 軟骨細胞に対するペリオスチンの作用を検討したところ、ペリオスチン含有培養液下では、軟骨細胞の増殖や分化に影響はなかった。一方、ペリオスチン含有コラーゲンを用いて軟骨細胞を3次元培養したところ、分化の促進が観察された。さらに、このペリオスチン含有コラーゲン上で培養した軟骨細胞では、AKTシグナルを介した細胞外基質シグナルが活性化していることが確認された。そのため、軟骨細胞に対するペリオスチンの生物活性は、ペリオスチンによるコラーゲンの高次構造化を介するものと示唆された。

以上、本論文ではペリオスチンがコラーゲンへ作用しコラーゲン分子の高次構造化を促進することが示され、この変化により、再生軟骨周囲ではその形態保持に不可欠な外周線維が十分な強度を持って構築され、組織内部においては再生軟骨の成熟が促進されることが明らかとなった。再生組織が移植後、その形態を維持する機序はこれまで明らかになっていなかったが、本研究でペリオスチンの分子機構を明らかにすることにより、ペリオスチンが関与する線維組織構築と強度維持の機序が解明された。これにより、臨床的に厳密な3次元形態が求められる再生軟骨の形状維持が可能となることが示唆され、新たな再生医療技術につながる知見と思われた。以上より、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。