

学位論文審査結果の報告書

氏 名

森 竹 章 公

生 年 月 日

(昭和)・平成 62 年 6 月 22 日

本籍(国籍)

大阪府

学位の種類

博 士 (医 学)

学位記番号

医 第1240号

条 件
(博士の学

学位規程第5条該当

論 文 題 目

Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency enhances
subchondral osteopenia after induction of osteoarthritis
in mice

(Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) は変形性膝関節
症マウスにおける軟骨下骨の骨密度減少を抑制する)

学位論文受理日

2017年 10月 25日

学位論文審査終了日

2018年 1月 25日

審 査 委 員

(主 査)

磯貝典孝



(副主査)

岡田 斉



(副主査)

船内正憲



(副 査)



指 導 教 員

赤木將男



論文内容の要旨

【目的】

変形性膝関節症（膝 OA）において軟骨下骨の骨量減少は病態の進行に重要とされている。これまでの研究は、線維素溶解の阻害剤であるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1 (PAI-1) が骨代謝に関連していることを示唆している。しかしながら、OA におけるその役割は未知のままである。したがって、今回我々は、卵巣摘出 (OVX)、膝 OA モデル (DMM) 手術を施行した野生型および PAI-1 欠損マウスを用いて、PAI-1 の閉経後骨粗鬆症による軟骨下骨の骨密度変化ならびに膝 OA 進行に及ぼす影響を検討した。

【方法】

7 週齢の野生型および PAI-1 欠損マウスに OVX あるいは sham 手術を施行し、8 週齢で右膝に DMM 手術、左膝に sham 手術を行い、16 週齢で定量 CT 解析と膝関節組織での関節症進行度を評価した。また、野生型および PAI-1 欠損マウスを用い初代骨芽細胞培養実験と骨髄細胞からの破骨細胞形成の検討を行った。

【結果】

定量 CT 解析において、OVX は、野生群および PAI-1 欠損群における軟骨下骨の骨密度を有意に低下させた。DMM は、単独で PAI-1 欠損群の軟骨下骨の骨密度を有意に低下させたが、野生群では影響はなかった。PAI-1 欠損は、OVX と DMM を行ったマウスにおける軟骨下骨の骨密度低下を有意に増大させた。また、HE 染色による軟骨下骨の組織学的評価では定量 CT 解析と同様の結果を認めた。関節症進行度は、OARSI スコアリングシステムによって評価した。DMM は野生群と PAI-1 欠損群において OARSI スコアを有意に悪化させた。OVX は野生群と PAI-1 欠損群で OARSI スコアに影響はなかった。OARSI スコアは、特に OVX と DMM を行ったマウスにおいて、PAI-1 欠損群で悪化したようであるが、その差は統計的に有意ではなかった。

野生型および PAI-1 欠損マウスを用いた初代骨芽細胞の検討では、PAI-1 欠損は、IL-1 β によって抑制される骨芽細胞分化に関連する遺伝子に影響しなかったが、IL-1 β 添加による RANKL/OPG 発現比上昇を有意に増強した。また、野生型および PAI-1 欠損マウスより採取した骨髄細胞からの M-CSF および RANKL 存在下の破骨細胞形成の検討では、PAI-1 欠損は破骨細胞形成を有意に促進した。

【考察】

今回の実験結果から、PAI-1 欠損により、軟骨下骨に対する DMM の影響は強くなり、さらに OVX によって DMM の効果は増強された。その機序として、PAI-1 欠損による IL-1 β 誘導 RANKL 発現の増強およびその後の破骨細胞形成促進が関連している可能性がある。PAI-1 が OA により軟骨下骨で誘導される炎症性サイトカインによる破骨細胞形成促進を阻害し、結果として膝 OA 進行に対して保護的に作用することが示唆された。

【結語】

PAI-1 が破骨細胞形成を抑制することにより、OA における軟骨下骨の骨密度の骨量減少を抑制し、OA の進行に保護的に作用することが示唆された。このことは、PAI-1 が OA における治療に役立つ可能性があり、今後さらなる検討が必要である。

博士論文の印刷公表	公 表 年 月 日	出版物の種類及び名称
	平成 29 年 9 月 11 日 公 表 (doi:10.1186/s12891-017-1752-5)	博士学位論文 BMC Musculoskeletal Disorders Vol. 18.1 : 392 2017 年 9 月 11 日 online 掲載
	Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency enhances subchondral osteopenia after induction of osteoarthritis in mice.	
	全 文	

論文審査結果の要旨

1) 論文内容の要旨

【目的】

変形性膝関節症（膝OA）において軟骨下骨の骨量減少は病態の進行に重要とされている。これまでの研究は、線維素溶解の生理的阻害因子であるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター-1（PAI-1）が骨代謝に関連していることを示唆している。しかしながら、OAにおけるその役割は未知のままである。したがって、今回我々は、卵巣摘出（OVX）、膝OAモデル（DMM）手術を施行した野生型およびPAI-1欠損マウスを用いて、PAI-1の閉経後骨粗鬆症による軟骨下骨の骨密度変化ならびに膝OA進行に及ぼす影響を検討した。

【方法】

7週齢の野生型およびPAI-1欠損マウスにOVXあるいはsham手術を施行し、8週齢で右膝にDMM手術、左膝にsham手術を行い、16週齢で定量CT解析と膝関節組織での関節症進行度評価を実施した。また、野生型およびPAI-1欠損マウスを用い初代骨芽細胞培養実験と骨髓細胞からの破骨細胞形成の検討を行った。

【結果】

定量CT解析において、OVXは、野生群およびPAI-1欠損群における軟骨下骨の骨密度を有意に低下させた。DMMは、単独でPAI-1欠損群の軟骨下骨の骨密度を有意に低下させたが、野生群では影響はなかった。PAI-1欠損は、OVXとDMMを行ったマウスにおける軟骨下骨の骨密度低下を有意に増大させた。また、HE染色による軟骨下骨の組織学的評価では定量CT解析と同様の結果を認めた。関節症進行度は、OARSIスコアリングシステムによって評価した。DMMは野生群とPAI-1欠損群においてOARSIスコアを有意に悪化させた。OVXは野生群とPAI-1欠損群でOARSIスコアに影響はなかった。OARSIスコアは、特にOVXとDMMを行ったマウスにおいて、PAI-1欠損群で低下する傾向が認められたが、その差は統計的に有意ではなかった。

野生型およびPAI-1欠損マウスを用いた初代骨芽細胞の検討では、PAI-1欠損は、IL-1 β によって抑制される骨芽細胞分化に関連する遺伝子の発現に影響しなかったが、IL-1 β 添加によるRANKL/OPG発現比上昇を有意に増強した。また、野生型およびPAI-1欠損マウスより採取した骨髓細胞からのM-CSFおよびRANKL存在下の破骨細胞形成の検討では、PAI-1欠損は破骨細胞形成を有意に促進した。

【考察】

今回の実験結果から、PAI-1欠損により、軟骨下骨に対するDMMの影響は強くなり、さらにOVXによってDMMの効果は増強された。その機序として、PAI-1欠損によるIL-1 β 誘導RANKL発現の増強およびその後の破骨細胞形成促進が関連している可能性がある。PAI-1がOAにより軟骨下骨で誘導される炎症性サイトカインによる破骨細胞形成促進を阻害し、結果として膝OA進行に対して保護的に作用することが示唆された。

【結語】

PAI-1が破骨細胞形成を抑制することにより、OAにおける軟骨下骨の骨密度の骨量減少を抑制し、OAの進行に保護的に作用することが示唆された。このことは、PAI-1がOA治療に役割を果たす可能性があり、今後さらなる検討が必要である

2) 審査結果の要旨

この発表に対して、主査である磯貝典孝教授、副査である岡田斉、船内正憲両教授が質問した。

質問内容は、(1) PAI-1の血中濃度 (2) 骨密度低下と軟骨変性の進行過程 (3) 2種類の骨芽細胞を用いた理由 (4) PAI-1を分泌する細胞源と時期 (5) in vitroで観察された結果は、モデル動物 (in vivo) で再現できるか (6) OAにおいて破骨細胞を選択的に抑制するPAI-1の臨床展開（治療・予防） (7) 軟骨変性の評価方法 (8) in vitroで使用した2種類の骨芽細胞の純度 (9) OAにおけるIL-1 β 、TGF- β 以外のサイトカインの関与 (10) 軟骨変性を予防するためのPAI-1の役割などについてであった。これらの多方面にわたる質問に対して、著者は、具体的な例をあげながら極めて的確に応答した。したがって、主査・副査は合議の上、提出された学位論文が確かに森竹章公氏の研究成果であること、学位授与にふさわしい外科的知識や能力を合わせて持つものと判断した。

3) 最終試験の結果： 合格と判定する。

4) 学位授与の可否： 可