



Title	Periarticular Gene Expression of Osteopontin and Progression in Osteopenia Following Joint Immobilization
Author(s)	三山, 崇英
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43736
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	三 山 崇 英
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 9 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 4 年 3 月 2 5 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Periarticular Gene Expressoin of Osteopontin and Progression in Osteopenia Following Joint Immobilization (関節不動化に伴う骨萎縮の傍関節部でのオステオポンチンの発現)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 川 秀 樹 (副査) 教 授 越 智 隆 弘 教 授 細 川 互

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

関節の不動化により関節の拘縮の形成と共に傍関節部での急速な骨萎縮を来す。この傍関節部の骨萎縮は骨折の危険性を増大させ、関節機能回復の阻害因子となりうる。これまでに関節の不動化により傍関節部で破骨細胞の骨吸収が亢進することは報告されている。しかし、関節不動化に伴う局所的な破骨細胞の増加、そして骨吸収活性化の分子機構は不詳である。骨基質蛋白質 Osteopontin (OPN) は骨形成に強く関与しており、OPN が破骨細胞の分化、骨表面への接着、そして破状縁形成による骨吸収の活性化に深く関与することが報告されている。そこで我々はラットの膝関節不動化モデルを用いて、本病態に OPN がどのように関与しているかを経時的に組織学的に検討することを目的として、まず傍関節部における骨密度の経時変化と破骨細胞の発現変化、骨形成の指標とされる I 型コラーゲン (Col I) と対比して、OPN の発現変化を調べ、縦断的研究を行った。

【方法】

15週齢雄 Wistar ラット40匹を用い、右膝大腿骨、脛骨を骨膜外にソフトワイヤーを通して屈曲150° で固定した (n=20)。固定後、1、2、3、4 週 (各 5 匹) で 4% Paraformaldehyde で環流固定を行い、膝関節を摘出した。対照として同週齢の健常ラットを用いた。検討項目として 1) 傍関節部を X 線撮影し、バイオイメージアナライザーを用いて骨密度を測定、2) 脱灰後、薄切切片を作製し、酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色により破骨細胞を同定、3) 骨形成のマーカーとして Col I の局在と、4) さらに OPN の発現を、in situ hybridization 法にて検討した。

【成績】

1) 骨密度の減少は、固定群の骨幹端部で著明であり、2 週目以降 4 週まで固定群が対照群に比べて経時的に有意に低下していた。2) 組織学的検討では固定 1 週より骨幹端部中心に骨梁の減少を認め、3 週以降では著減した。TRAP 陽性多核細胞は固定 1 週より有意に増加し、固定 2 週をピークに漸減傾向であったが、対照群に比べていずれも有意に増加していた。また、その傾向は骨幹端部で顕著であった。3) Col I 陽性細胞は固定 1 週で対照群に比べて 2.3 倍と有意に増加していた。2 週、3 週ではやや増加しているが有意差はなかった。4 週では固定群で対照群

の半分以下と有意に減少していた。4) OPN 陽性細胞は固定群で1週より骨幹端部に発現を見たが、その発現は骨細胞、骨梁表層の骨芽細胞様の細胞に見られ、破骨細胞様細胞にも一部シグナルを認めた。OPN 陽性細胞は固定1週から3週まで2週をピークに対照群に比べ有意に増加し、4週では対照群と有意差はなかった。

【総括】

関節不動化モデルを用いた組織学的検討により、傍関節部の骨萎縮に OPN がどのように関与しているかを検討した。得られた成績は次のようにまとめられる。

1) TRAP 陽性の破骨細胞は関節固定1週から2週をピークに骨幹端部に増加しており、骨吸収が固定後急速に進行していた。

2) 骨形成のマーカーである Col I 陽性細胞は固定1週をピークに増加し4週では減少傾向にあり、本モデルが固定初期では高回転型の骨粗鬆症モデルであることが示唆された。

3) OPN 陽性細胞は主に骨細胞、骨芽細胞に発現しており1週から2週をピークに骨幹端部で増加し、骨形成に関与していることが考えられる。一方、TRAP 陽性細胞と発現時期が似た挙動を示しており、OPN が破骨細胞の骨基質への接着に関与していることから本モデルでは OPN の発現増加により破骨細胞を骨梁表面に誘導して、骨吸収を活性化させたことが考えられる。

以上から傍関節部での骨細胞、骨芽細胞による OPN 発現の亢進は破骨細胞のホーミング機構を伴う傍関節部局所の高回転型の骨代謝状態の形成に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

関節固定による骨粗鬆症化はまだ不明である。ラットの膝関節不動化モデルは、膝関節屈曲で固定後1週間から4週間で骨萎縮を再現性良く作成する優れた動物モデルである。本モデルによる骨密度低下は臨床例における関節固定による骨粗鬆症化の所見と類似し、関節固定による骨萎縮と考えられる。

骨密度の減少は、固定群の骨幹端部で著明であり、経時的に有意に低下していた。組織所見では固定1週より骨幹端部中心に骨梁の減少を認め、TRAP 陽性多核細胞の破骨細胞は固定1週ですでに骨幹端に増加しており、骨吸収が固定後急速に進行していることが示された。I 型コラーゲン陽性細胞は固定1週で有意に増加しており固定初期では骨形成も亢進し、高回転型の骨粗鬆症化が示された。また、オステオポンチン陽性細胞は主に骨細胞、骨芽細胞に発現しており1週から骨幹端部で増加しており、オステオポンチンが関節の不動化による骨形成に関与している可能性が示唆された。

本研究によりオステオポンチンの制御により骨萎縮を抑制できる可能性が示されたこと、また本モデルを用いて新規薬剤の効果判定が可能となったことから学位の授与に値すると考えられる。