

Title	Localization of cathepsins G and L in spontaneous resorption of intervertebral discs in a rat experimental model
Author(s)	孟, 文翔
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43762
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	孟 文 翔
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 8 9 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 3 月 25 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	Localization of cathepsins G and L in spontaneous resorption of intervertebral discs in a rat experimental model (実験的ラット椎間板自然吸収モデルにおけるカテプシンG、Lの局在)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 吉 川 秀 樹 (副査) 教 授 越 智 隆 弘 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

近年、CT や MRI の発展によって、椎間板ヘルニア組織が自然吸収されることが分かってきた。その自然吸収メカニズムにおいて、MMPs やマクロファージが関与していると報告されている。一方セリンプロテアーゼのカテプシンG、およびシステインプロテアーゼのカテプシンLはコラーゲン、プロテオグリカンなどの椎間板外基質成分の分解能力を持ち、椎間板変性を関与することを報告されています。まだ、カテプシンGを含めたセリンプロテアーゼは proMMPs を活性化し得ることが報告されています。しかし、椎間板基質を分解し得るこれらの蛋白分解酵素の、椎間板ヘルニアの自然吸収過程における関与は不明である。本研究の目的はラットの椎間板ヘルニア自然吸収モデルにおいてカテプシンG、Lの発現およびその経時的変化を免疫組織化学的に検討することにより、椎間板ヘルニアの自然吸収過程における各蛋白分解酵素の役割を明らかにすることである。

【方法】

12週齢の Wistar ラット雄の第6-8尾椎椎間板を片側の軟骨性終板を付けて摘出し、背部皮下に自家移植する椎間板自然吸収モデルを作成した。術後0、24、48、72時間、1、2、3週間で各3匹ずつ屠殺し、移植した椎間板を摘出した。組織は10%ホルマリンにして固定、パラフィン包埋し、正中矢状断切片を作成した。一次抗体として、抗モウスカテプシンG、L、抗マウスMMP-1、3に対するポリクローナル抗体と、マウス抗ラットED-2モノクローナル抗体を用い、ストレプトアビジン法により免疫染色を施行した。それぞれの陽性細胞を顕微鏡(400倍5視野)で計数し、全細胞中の各酵素陽性細胞の割合を計算した。

【成績】

1. 組織学的検討

移植した椎間板周囲肉芽組織は48時間から見られ、著明な増生が1週間からでた。炎症細胞の浸潤は48時間から見られ、その分布が主に髄核と線維輪の外層でた。

2. 免疫組織学的検討

マクロファージの浸潤は移植後48時間から移植した椎間板組織外層に見られ、陽性細胞数2週間でピークになった。

これらの蛋白分解酵素陽性細胞は椎間板に全体に発現しており、特に線維輪の軟骨細胞様細胞、マクロファージ様細胞に強く発現を認めた。線維輪における抗 MMPs 陽性細胞はマクロファージの増加とともに増加し、抗 MMP-1陽性細胞が2週間以後徐々に減少した、抗 MMP-3陽性細胞が我々の観察期間（三週）に至るまで徐々に増加し続けた。抗カテプシン G、L 陽性細胞は移植後各24、48時間でピークになり、その以後徐々に減少した。

【総括】

実験的ラット椎間板自然吸収モデルにおけるカテプシン G、L の局在について検討した。得られた成績は次のようにまとめられる。

1. 椎間板自然吸収モデルにおいてカテプシン G、L の発現を認めました。
2. 椎間板自然吸収モデルにおけるカテプシン G、L の発現はマクロファージ等の炎症細胞が浸潤する以前から、椎間板細胞による蛋白分解酵素の自己分泌が生じていた。それらの蛋白分解酵素はコラーゲン、プロテオグリカンなどの細胞外マトリクス分解能を持ち、proMMPs の活性化と TIMP の分解、新生血管の促進に働き得るため、椎間板ヘルニア自然吸収の早期に重要な作用を持つ可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

椎間板ヘルニアは保存療法により臨床症状が改善することが知られているが、そのメカニズムは未だ明らかに解明されていない。椎間板異所性移植モデルは、ヒト椎間板ヘルニア組織に類似した変化を示すため、椎間板自然吸収の経時的变化を検討する動物モデルとして適切と考えられる。

カテプシン G、L は、椎間板変性とその細胞外マトリクスの分解に関与することが指摘されている。本研究では椎間板異所性移植モデルを用いて免疫組織学的検討し、椎間板ヘルニアの吸収過程においてカテプシン G、L の発現を検討した。その結果マクロファージ等の炎症細胞が浸潤する以前から、椎間板細胞による蛋白分解酵素の自己分泌が生じており、それらの蛋白分解酵素が椎間板細胞外マトリクスの分解や、MMPs の活性化に関与する可能性が示された。

これまで椎間板ヘルニア自然吸収過程におけるカテプシン G、L 関与についての研究がなかったこと、さらに椎間板細胞ヘルニアが蛋白分解酵素の自己分泌メカニズムが存在する可能性を示したこと、椎間板ヘルニアに対する新しい治療法の開発に有益な情報を与えたことから、本研究は学位の授与に値すると考える。