OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Continuous Infusion of Angiotensin II Modulates Hypertrophic Differentiation and Apoptosis of Chondrocytes in Cartilage Formation in a Fracture Model Mouse
Author(s)	川畑, 浩久
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51919
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	川畑　浩久
論文題名 Title	Continuous Infusion of Angiotensin II Modulates Hypertrophic Differentiation and Apoptosis of Chondrocytes in Cartilage Formation in a Fracture Model Mouse. (アンギオテンシンIIの持続投与は骨折修復モデルの仮骨内軟骨組織における軟骨細胞の肥大化とアポトーシスを調節する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

レニン-アンギオテンシン（RA）系は、生体内における主たる血圧調節機構であるが、血管・心臓を初め、さまざまな組織における局所RA系の存在が報告されており、各種病態への関与が多くの研究で示唆されている。近年では運動器を構成する細胞にもアンギオテンシンII受容体の発現が報告され、高血圧とは独立した疾患と考えられてきた骨粗鬆症においても、アンギオテンシン II（以下Ang II）が骨芽細胞のAng II I型受容体（以下AT1R）を介してRANKL/NFkB経路を活性化させ、破骨細胞機能亢進による骨吸収を促進させることが示唆されている。

一方で、軟骨変性疾患と高血圧・循環器疾患との関連を疫学的に示唆する報告があり、また軟骨組織におけるアンギオテンシンII受容体の発現と局所RA系の存在も基礎的研究で確認されているものの、生体においてAng IIが軟骨代謝に及ぼす具体的影響は未だ明らかではない。本研究では、生体内においてAng IIが軟骨細胞の分化・細胞死などにどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とし、Ang IIを持続投与した骨折修復モデルマウスを用いて検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

Ang IIは血流を介して供給されるが、関節軟骨は無血管領域に存在するため、投与されたAng IIが軟骨細胞に直接作用しない。本研究では、骨折修復では新生血管が形成されること、骨折修復過程における仮骨内の軟骨組織では発育過程の成長軟骨でみられる軟骨細胞の増殖・分化・アポトーシスを適確に再現していること、から本研究において適切なモデルと考えられた。

C57BL/6NJマウス8週齢雌の第8肋骨を外科的に骨折させ、同時にosmotic pumpを用いてAng II(1,000ng/kg/min)を持続投与した（以下Ang II群）。またAng II持続投与と同時にAT1R阻害剤であるolmesartanを投与する群（以下Ang II+olm群）も作成した。さらに血圧の影響を除外するためRA系を抑制しない降圧剤hydralazineを投与した群（以下Ang II+hyd群）も作成した。なお生理的食塩水を投与した群を対照群（以下saline群）として比較検討を行った。

免疫組織学的検討にて、増殖軟骨細胞・肥大軟骨細胞にAT1Rの発現を認め、Ang IIが軟骨細胞に作用しうることを確認した。同モデルにおける血圧については、骨折2週後においてAng II群で有意に血圧の上昇が認められ、Ang II+olm群、Ang II+hyd群では上昇した血圧は有意に抑制されていた。HE染色による組織学的検討において、Ang II群では仮骨内に形成された軟骨組織量がsaline群に比して有意に増大していた。この軟骨組織の増大はAng II+olm群では有意に抑制されたが、Ang II+hyd群での抑制は認められなかった。RT-PCR法による検討で、Ang II群では肥大軟骨細胞のマーカーであるtype X collagen、matrix metaroprotease-13（以下MMP-13）、indian hedgehogのmRNA発現の有意な上昇がみられ、免疫組織学的染色においてもtype X collagen、MMP-13発現亢進が認められた。さらに軟骨細胞の分化・肥大化を促進するRunx2, Sox-9のmRNA発現も有意に上昇していた。Ang II投与によるこれらの遺伝子発現亢進はAng II+olm群では有意に抑制されたが、Ang II+hyd群では抑制されなかった。

また骨折修復過程においては、仮骨内で分化した肥大軟骨細胞がアポトーシスを起こし内軟骨性骨化が誘導されるが、Tunel染色による検討ではAng II群ではTunel陽性細胞数の有意な減少を認め、Ang IIが軟骨細胞のアポトーシスに対して抑制的に作用することが示された。さらにAng II群ではアポトーシス抑制因子であるbcl-2やbcl-xLの遺伝子発現の有意な上昇を認め、Ang II+olm群ではその発現は有意に低下したが、Ang II+hyd群では変化を認めなかった。

〔総　括(Conclusion)〕

生体内において、Ang IIは軟骨細胞の分化を促進しアポトーシスを抑制することが示された。本研究において示されたAng IIの軟骨細胞への影響は、AT1R拮抗剤olmesartanにより阻害され、RA系を抑制しない降圧剤hydralazineによる同等の血圧低下によっては変化しなかったことから、血圧の影響ではなく、Ang IIのAT1Rを介した直接的作用であることが示唆された。また、軟骨細胞分化を病態の基盤とする軟骨変性疾患進展におけるRA系関与の可能性や、ロコモティブ症候群におけるRA系を軸とした新たな治療概念を示唆した。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　川畑　浩久

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	森下　竜一
副　査	大阪大学教授	桑木　共之
副　査	大阪大学教授	吉川　秀樹

論文審査の結果の要旨

本論文は、生体内において局所レニン-アンギオテンシン系（RA系）が軟骨細胞の分化・細胞死などにどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とし、アンギオテンシンII（Ang II）を持続投与した骨折修復モデルマウスをもちいて検討を行ったものである。

その結果、Ang IIは軟骨細胞の分化を促進しアポトーシスを抑制することが示された。またAng IIの軟骨細胞への影響は、Ang1型受容体（AT1R）の拮抗剤であるolmesartanにより阻害されたことから、Ang IIのAT1Rを介した直接的作用であることが示唆された。

これまでも軟骨組織に対する局所RA系の存在については報告されているが、本論文ではAng IIが生体内の軟骨組織に与える影響を検討しており、これについてはこれまで報告がないことから新規性も高く、さらに変形性関節症などの軟骨変性疾患におけるRA系の関与の解明にもつながると考えられる。したがって本論文は学位の授与に値すると考えられる。