

福間裕子氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Potential function of Scx+/Sox9+ cells as progenitor cells in rotator cuff tear repair in rats (ラットにおける肩腱板断裂修復術での前駆細胞としての Scx/Sox9 共陽性細胞の機能)

[目的] 腱の骨への付着部位である線維軟骨組織は、断裂したときの自己修復能力が低く、外科的修復を行っても再断裂の危険性がある。したがって、腱の修復を促進するためには腱の修復過程の解明が必要である。ScxGFP 遺伝子改変 (Tg) マウスの腱板付着部損傷モデルを用いた先行研究で、腱・軟骨細胞マーカーである Scleraxis (Scx) および SRY-box 9 (Sox9) 発現細胞が生後の修復過程に寄与する可能性を報告したが、マウスではサイズ面から腱板縫合後の修復過程の評価が困難であった。今回新たに ScxGFP Tg ラットを樹立し、腱板成熟過程と縫合後の修復過程における Scx および Sox9 発現細胞の参画の有無と局在を評価するために研究を行った。

[方法] 3、6、12 週齢の ScxGFP Tg ラットの棘上筋腱を切離し腱板修復術を施行した。術後 2、4、6 週で灌流固定を行い組織を採取し、粘着フィルム法で作製した非脱灰凍結切片を組織学的に評価した。HE 染色で修復部の組織形態、Toluidine Blue (TB) 染色で修復部の線維軟骨形成、alizarin red/ ALP 染色で石灰化および ALP 活性について評価し、Scx と Sox9 の局在について抗 GFP 抗体と抗 Sox9 抗体を用いた二重免疫染色で評価した。

[結果] ScxGFP Tg ラットの成熟過程において、腱に沿って組織特異的な GFP 発現を観察し、GFP シグナルに基づいて組織特異的な Scx 発現を観察することに成功した。3 週齢、6 週齢、12 週齢の ScxGFP Tg ラットの中で、Scx+/Sox9+細胞は 3 週齢のラットで腱板腱に上腕骨が付着する部位付近に最も多く存在したが、6 週齢や 12 週齢のラットでは同部位に有意に少ない細胞が観察された。次に、ScxGFP Tg ラットを用いた腱板修復モデルを観察したところ、術後の修復部位では、6 週齢や 12 週齢のラットに比べて、3 週齢のラットで最も多くの Scx+/Sox9+細胞が観察された。腱は線維軟骨組織を介して骨に付着し、軟骨様組織は 3 週齢の修復部位で見られたが、6 週齢や 12 週齢のラットの術後評価ではみられなかった。

[結論] Scx+/Sox9+細胞は腱板修復に関与している可能性があり、ScxGFP Tg ラットは腱板修復を促進する治療法を開発するための有用なツールとなる可能性がある。

審査では、ラットの肩腱板断裂修復術の具体的な内容、腱板修復時に出現する Scx+/Sox9+細胞の由来、(本研究とは直接関係のない) Sox9 の一般的な機能、Scx と Sox9 が相互に及ぼす作用や相互の関係性、ScxGFP 発現操作とトランスジェニックラットの作製方法、非石灰化軟骨の意義および ALP 発現の意義、今後の展望などについて質問がなされ、申請者から適切な回答が得られた。本研究は、ヒトと同様に腱板断裂修復術を行うことが可能な ScxGFP Tg ラットを樹立し、腱板修復時の Scx+/Sox9+細胞の関与を評価し、今後の治療法開発に繋がる知見が得られた点において学位授与にふさわしいと判断された。

審査委員長 歯科口腔外科学担当教授

伊 木 奈 樹