

学位論文内容要旨

論文題目

合短指症における著しく低形成な指節骨と中手骨の成長について：

マウスによる実験的研究

指導（紹介）教授： 荻野 利彦

申請者氏名： 金内 ゆみ子

【内容要旨】

目的：合短指症では、低形成で骨化が遅延している矮小な指節骨と中手骨を認めることが多い。これらの所見は、幼少時の X 線像でも、骨端核の出現遅延や欠損としてみられることがある。しかし、この矮小な骨の成長の病態は不明である。骨形成因子の 1 つである growth and differentiation factor 5 (Gdf5) は骨軟骨形成に重要な役割を果たすことが報告されている。Gdf5 が欠損している brachypodism (bp) マウスでは、手指の低形成、指骨の短縮、中節骨の欠損がみられ、合短指症に極めて類似した基節骨の低形成が存在する。そこで、合短指症の矮小な骨の病態研究のために bp マウスの基節骨の骨化を観察した。

方法：胎齢 16.5 日から生後 21 日までの wild マウスと bp マウスの前肢を摘出した。軟骨と骨形成を観察するために、X 線撮影、サフラニン O 染色、II 型コラーゲンの *in situ* hybridization を行った。アポトーシスを観察するために、TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL 法) を行った。破骨細胞による軟骨吸収を観察するために、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 活性を観察した。

結果：X 線像上、bp マウスは、wild マウスと比較して、全指節骨で骨化遅延、低形成を認め、特に基節骨において骨化の遅延は著しく、経時的成長も乏しかった。サフラニン O 染色、II 型コラーゲンの *in situ* hybridization では、胎齢 16.5 日で wild マウスと bp マウスともに、基節骨の軟骨原基を認めたが、bp マウスでは極めて矮小であった。wild マウスでは、胎齢 16.5 日より軟骨吸収が基節骨中央から始まり、生後 7 日で二次骨化と成長帯を認めた。bp マウスでは、生後 7 日より、軟骨吸収が基節骨全体に生じたが、骨端軟骨と成長帯の形成は認めなかった。TUNEL 法では、wild マウスで、アポトーシス陽性細胞は胎齢 18.5 日より基節骨中央で出現し、生後 7 日で髓腔全体に認められた。bp マウスでは、アポトーシス陽性細胞が生後 7 日より掌側の骨膜下に出現し、生後 21 日で全体に観察された。TRAP 陽性細胞は、wild マウスで、生後 0 日より基節骨中央で認め、生後 7 日で髓腔全体に広がり、生後 14 日で骨幹端と骨端に局限した。bp マウスでは、生後 7 日から 14 日まで全体に認めた。

考察：bp マウスの基節骨では、軟骨のアポトーシス、軟骨吸収、骨形成という内軟骨性骨化の過程は確認されたが、軟骨原基は矮小で、成長に乏しく、骨化遅延を認め、二次骨化による成長を認めなかった。Gdf5 は軟骨原基の成長と更なる骨格形成の双方に関与し、特に四肢において重要な役割を果たしていると考察される。合短指症の矮小な骨にも類似した病態が存在すると推測される。

(1, 200 字以内)

平成 22 年 1 月 26 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学 位 論 文 審 査 結 果 報 告 書

申請者氏名：金内 ゆみ子

論 文 題 目：Growth of severely hypoplastic phalanges and metacarpals in symbrachydactyly:
An experimental study in mice

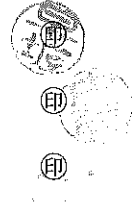
審 査 委 員：主審査委員

副審査委員

副審査委員

審査終了日：平成 年 月 日

早 二 郎 (下)
内 藤 輝
中 島 修



【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

合短指症では、指節骨と中手骨の低形成および骨化の遅延を認めることが多く、これらの病態は不明である。一方、骨形成因子の1つであるgrowth and differentiation factor 5 (GDF5) は骨軟骨形成に重要な役割を有し、GDF5が欠損するbrachypodism (bp) マウスでは、手指の低形成、指骨の短縮、中節骨の欠損を呈し、合短指症に極めて類似した基節骨の低形成が認められる。金内ゆみ子氏は、合短指症における骨の病態研究のためにbpマウスの基節骨の形成過程を解析した。

方法として、胎齢16.5日から生後21日までのwildマウスとbpマウスの前肢を摘出し、X線撮影、サフラニンO染色、Ⅱ型コラーゲンの in situ hybridization, TUNEL法染色、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 活性染色を行った。

結果として、bpマウスは、X線像上、全指節骨特に基節骨において骨化遅延、低形成を認めた。サフラニンO染色、Ⅱ型コラーゲンの in situ hybridizationでは、胎齢16.5日に極めて矮小な基節骨の軟骨原基を認めた。wildマウスでは、胎齢16.5日より軟骨吸収が基節骨中央から始まり、生後7日で二次骨化と成長帯を認めた。bpマウスでは、生後7日より軟骨吸収が基節骨全体に生じたが、骨端軟骨と成長帯の形成は認めなかった。TUNEL法では、wildマウスで、アポトーシス陽性細胞は胎齢18.5日より基節骨中央で出現し、生後7日で髓腔全体に認められた。bpマウスでは、アポトーシス陽性細胞が生後7日より掌側の骨膜下に出現し、生後21日で全体に観察された。TRAP陽性細胞は、wildマウスで、生後0日より基節骨中央で認め、生後7日で髓腔全体に広がり、生後14日で骨幹端と骨端に限局した。bpマウスでは、生後7日から14日まで全体に認めた。即ち、bpマウスの基節骨では、軟骨のアポトーシス、軟骨吸収、骨形成という内軟骨性骨化の過程は認めるが、wildマウスと比較して、軟骨原基の段階より矮小で、成長に乏しく、骨化遅延を認めた。また骨端軟骨と成長帯を欠き、二次骨化による成長を認めなかった。

以上のことから、GDF5 は軟骨原基の成長と更なる骨格形成の双方に関与し、特に四肢において重要な役割を果たしていると考察し、合短指症の矮小な骨にも類似した病態が存在すると推測している。本研究は、確かな方法により解析され、得られた結果も適切に考察されており、本審査会は学位論文 (医学博士) に値するものと判定した。