

論文内容要旨

論文題目

Developmental failure of the knee joint in absence of growth differentiation factor 5 in mice
(GDF5 機能欠損マウスにおける膝関節の形成不全についての研究)

責任講座： 整形外科 講座
氏名：厚田幹生

【内容要旨】

【目的】 GDF5 は骨格形成に関与する成長因子である。GDF5 の機能が欠損した brachypodism (bp) マウスでは、指関節の欠損など小関節の異常が報告されている。しかし、未だ大関節の異常については明らかにされていない。本研究の目的は、bp マウスを用い膝関節形成における GDF5 の影響を検討することである。

【材料と方法】 材料として wild マウスと bp マウスの成体と胎児を用いた。成体に対しては、膝関節の X 線撮影と肉眼的観察を行った。胎児については、5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与した妊娠マウスから胎齢 12.5 日から 18.5 日の胎児を摘出し、膝関節予定領域および膝関節部に対し、サフラニン O 染色、in situ hybridization (GDF5)、BrdU の免疫染色、および ApopTag を用いた TUNEL 法による組織学的観察を行った。

【結果】 成体では、bp マウスの膝関節に脱臼、低形成、関節内靭帯の欠損が認められた。胎児では、関節予定領域が胎齢 13.5 日で wild と bp マウスの両方に形成されたが、関節内靭帯の形成は、胎齢 16.5 日以降の wild マウスだけに認められた。膝関節予定領域では、GDF5 mRNA の発現が胎齢 13.5 日で wild と bp マウスの両方で認められ、bp マウスの方がより強い発現を示していた。TUNEL 陽性細胞の数は、胎齢 13.5 日の bp マウスで著明に増加していた。BrdU 陽性細胞の数に違いは認められなかった。

【考察】 今回、成体の観察から、bp マウスの膝関節に脱臼、低形成、関節内靭帯の欠損などの形成不全のみられることが明らかとなった。これは、GDF5 が大関節の形成にも関わることを示すものである。一方、胎児の観察から、胎齢 13.5 日の bp マウスの膝関節予定領域に、過剰なアポトーシスと過剰な GDF5 mRNA の発現がみられることが示された。したがって、bp マウスの膝関節形成不全は、GDF5 の機能欠損により関節予定領域の間葉細胞に過剰なアポトーシスが起り発現してくることが考えられた。

平成 17 年 1 月 25 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： 原田幹生

報告書題目： Developmental failure of the knee joint in absence of growth differentiation factor 5 in mice.

(GDF5 機能欠損マウスにおける膝関節形成不全についての研究)

審査委員：主審査委員

内藤 輝

印

副審査委員

大谷 浩一

印

副審査委員

斎藤 隆夫

印

審査終了日：平成 17 年 1 月 17 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

growth differentiation factor 5 (GDF5) は骨格形成に関与する成長因子である。GDF5 の機能が欠損した brachypodism (bp) マウスでは、指関節の欠損など小関節の異常が報告されている。しかし、未だ大関節の異常について詳細に調べた報告はない。そこで申請者は、bp マウスを用い膝関節形成における GDF5 の影響を検討した。

wild-type (wt) マウスと bp マウスの成体と胎児を材料とした。成体に対しては、膝関節の X 線撮影と肉眼的観察を行った。胎児に対しては、5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与した妊娠マウスから胎齢 12.5 日から 18.5 日の胎児を摘出し、膝関節予定領域および膝関節部のサフラニン O 染色、in situ hybridization (II 型コラーゲンと GDF5)、BrdU の免疫染色、および ApopTag を用いた TUNEL 法による組織学的観察を行った。

その結果、成体では、bp マウスの膝関節の脱臼や骨端部 (大腿骨と脛骨) の低形成がみられること、両骨端部の間は大腿骨後面と脛骨前面をつなぐ膜により隔てられており、関節内靭帯や半月板は形成されないことなどを明らかにした。胎児では、wt と bp マウスともに、胎齢 13.5 日に関節予定領域の形成がみられるが、bp マウスでは、この時期の同領域に wt マウスに比べより強い GDF5 mRNA の発現とより多くの TUNEL 陽性細胞が認められること、wt マウスでは胎齢 16.5 日で関節内靭帯や半月板がみられるようになり、bp マウスでは 18.5 日に上述の膜がみられるようになること、胎児期を通し、II 型コラーゲン mRNA の発現および BrdU 陽性細胞数に差はみられないことなどを明らかにした。

以上の結果は、GDF5 が大関節の形成にも関与することを示すと同時に、bp マウスの膝関節形成不全は、GDF5 の機能欠損により関節予定領域の間葉細胞に過剰なアポトーシスが起り発現してくる可能性を示すものである。

本研究には重要な新知見が含まれており、これらの結論を導き出す過程についても熟慮され、結果に対する考察も十分なされていた。本研究で得られた成果は、関節形成における GDF5 の意義や重要性を知る上で有用な情報を与えるものである。本審査委員会では、全員一致して、原田幹生氏が博士 (医学) の学位を受けるに十分に値するものと判定した。

(1, 200 字以内)