

# 論文内容要旨

論文題目 マウス肋軟骨損傷の修復過程

責任講座：整形外科学講座

氏名：朴 哲

## 【内容要旨】

【目的】 関節軟骨は血管と軟骨膜がないので、損傷に対する修復能力は乏しい。肋軟骨は血管を含んだ軟骨膜がある。軟骨膜は軟骨形成の能力がある。今までの研究では、肋軟骨損傷の修復に対して明らかにされていない。本研究の目的は、マウス肋軟骨損傷の修復過程を観察すること。

【方法】 5週の ICR マウスを用いた。麻酔下に左第10肋軟骨をハサミで切断した。損傷から1日、3日、1週、2週、3週、および12週後に損傷した肋軟骨を摘出した。4%パラホルムアルデヒドにて1晩固定し、EDTAにて3日から1週間脱灰した。パラフィンにて包埋し、4μmの薄切を作成した。サフランin O 染色、II型コラーゲンの *in situ hybridization*、CD44による免疫染色を行った。BrdUにて細胞増殖を観察し、Apop Tagを用いたTUNEL法にてアポトーシスを観察した。

【結果】 損傷後1日から2週まで、BrdU陽性細胞が軟骨膜に観察された。損傷後2週では、損傷した肋軟骨断端がサフランin O陽性組織にて連結された。この新しく形成した組織の細胞にはII型コラーゲン mRNAの強い発現がみられた。損傷後1週と2週には、アポトーシスが新しく形成した組織に観察された。損傷後3週には肋軟骨断端の連結が破綻し、12週には間隙がみられた。この間隙の表面にはCD44が観察された。

【考察】 マウス肋軟骨断端は損傷後2週になると、Safranin O染色陽性組織にて連結された。この連結組織にはII型コラーゲン mRNAの強い発現が認められた。これらの結果から肋軟骨損傷は軟骨様組織によって連結され、肋軟骨損傷は修復する能力があることが示唆された。細胞増殖をみると、損傷後1日から2週まで軟骨膜にBrdU陽性細胞が観察された。このことから、軟骨膜は軟骨損傷の修復に重要な役割をすることが示唆された。損傷後12週目になると、肋軟骨断端の連結が破綻し、間隙がみられた。この間隙の表面にはCD44が観察された。CD44は動きによって関節の表面に発現されるといわれている。これらのことから損傷部位には動きがあり、偽関節と類似した構造であると考えられる。アポトーシスが損傷後1週と2週に新しく形成した軟骨様組織に観察された。この結果から新しく形成した軟骨細胞がアポトーシスによって減少したと考えられる。

【結論】 肋軟骨断端は一時的に新しく形成した軟骨様組織にて連結されたが、最終的には癒合することができなかつた。

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： 朴 哲


論文題目： The response of costal cartilage to mechanical injury in mice

(マウス肋軟骨損傷の修復過程)


審査委員：主審査委員

藤井 順 逸 

副審査委員

本郷 誠 治 

副審査委員

近藤 慈 夫 

審査終了日：平成 18年 1月 30日

### 【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

関節軟骨は加齢に伴い損傷が進み運動障害をもたらす結果、高齢者の生活に著しい不自由をもたらす。関節軟骨は血管を含む軟骨膜を欠くため、軟骨形成能が低いことが損傷進行の原因として挙げられる。一方、肋軟骨は軟骨膜を有するため軟骨形成能は高いが、損傷を受けた場合にどのようにして修復が進むかといった点についての詳細な検討はなされていなかった。本研究では、マウス肋軟骨に切断による外傷を与え、その修復過程について検討を行った。

方法としては、5週齢の雄マウスの左第10肋軟骨を軟骨膜も含めて切断し、1日後ならびに、1、2、3、12週間後に周辺組織を含めて切断部を取出した。サフラニンO染色による軟骨基質の検出、in situ ハイブリダイゼーションによるII型コラーゲン mRNA の検出、BrdU 取込みによる細胞増殖の評価、関節表面に発現する CD44 の免疫染色による検出、さらにアポトーシス細胞の組織学的検出を TUNEL 法により行った。

その結果、切断後1週間で両断端の間、特に軟骨膜の内面近くからサフラニンO染色陽性の軟骨基質が検出され、軟骨様細胞の増殖が確認された。さらに軟骨基質に特徴的なII型コラーゲン mRNA の発現が認められた。2週間で同細胞により両断端が架橋されたが、TUNEL 法で陽性を示す細胞が現れることから、同時に細胞死が起っていることが分かった。3週では架橋部の離断がみられるようになり、12週で同細胞が消失して癒合しなかった。この時、動きのある関節表面に見られる CD44 が発現していることから、切断部の肋軟骨は偽関節様の構造をとっていることが示唆された。このように肋軟骨膜も含めて肋軟骨を完全切断した本外傷モデルでは、軟骨様細胞による架橋が一過性に認められるものの、癒合しないことが分かった。こうした外傷を受けた肋軟骨がどのように修復されるか過程を追った解析はこれまでになく、有用な知見と考えられる。

以上のように、本研究はこれまで不明であった損傷を受けた肋軟骨の修復過程について、外傷モデルを作製し軟骨様細胞の増殖とその細胞死の点から検討を行ったもので、医学的に有用と考えられる新しい知見が得られており、博士(医学)の学位に値すると判断された。