HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	GM3合成酵素KOマウスにおける変形性関節症に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	笹沢, 史生
Description	配架番号：2091
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11219号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55477
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Fumio_Sasazawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　笹沢　史生

主査　教授　近藤　亨
審査担当者　副査　教授　岩崎　倫政
副査　教授　田中　真樹
副査　教授　山本　有平

学 位 論 文 題 名

GM3 合成酵素 KO マウスにおける変形性関節症に関する研究
（Studies on Osteoarthritis with GM3 Synthase KO Mice)

変形性関節症(OA)は，関節の変性・破壊により疼痛や機能障害を来す疾患であり，本邦で 2500 万人以上が罹患していると言われている．今日まで，OA に関与する遺伝子の解析や蛋白質関連の様々な研究がされてきたが，その細胞・分子メカニズムに関する詳細は未だ十分に解明されておらず，疾患の進行を抑制し，その自然経過を変えうる真の意味で有効な治療法は確立されていない．したがって，OA の病態に関する理解を深め，より効果的な治療につなげるためには，これまでにない新しい標的分子を用いた，軟骨変性メカニズムの解析が必要である．そこで整形外科学分野では，近年注目されている糖鎖生物学に着目し，先行研究の中で，OA の病態においてスフィンゴ糖脂質(GSLs)が重要な役割を果たすことを証明した．申請者らはさらに GSLs の中でも機能的重要性の高い分子，もしくは分子群を限局していく必要があると考えガングリオシドに着目した．ガングリオシドは GSLs を構成する分子群のひとつであり，過去に OA との関連を示唆する報告も見られる．彼らは OA の病態において GSLs の中でもガングリオシドが重要な機能的役割を果たしているという仮説を立て，GM3 合成酵素の KO マウスを用い，ガングリオシド欠損状態で加齢，メカニカルストレス，化学的な炎症の誘発などによって OA を誘発した際の関節軟骨及び軟骨細胞の変化を遺伝子変異のない野生型マウスと比較，検証した．結果としては *in vivo*，*ex vivo* 等の OA 誘発モデルすべてでガングリオシドの欠損が OA を進行させた．この結果は先行研究のグルコシルセラミド合成酵素の KO で作製した全 GSLs 欠損が OA の進行を助長した結果と一致しており，全 GSLs の中で，ガングリオシドが OA の病態において中心的な役割を果たしていることが明らかとなった．

この発表に対し，まず副査の田中真樹教授は，マウスもしくはヒトの OA 関節におけるガング

リオシドの物質量について質問したが，申請者は今回の研究では測定の必要性は認識しつつも実際に測定するには至らなかったと回答した．さらに田中教授は，個体レベルでガングリオシドを投与することで臨床応用に向けての準備をしていくことになると思われるが，その際に起こると考えられる事象は何かと質問され，申請者は，ガングリオシドが脳や神経系に豊富に存在する物質であることを考えると，関節内など局所的な投与であればまだしも，静脈注射などの全身的な投与方法を用いた際には脳および神経系に重篤な影響が出る可能性もあると回答した．

続いて同じく副査の山本有平教授からは，本研究においては細胞レベルで遺伝子導入によりガングリオシドを増加させたが，今後，生体に応用していくにあたり，局所的にガングリオシドを増加させる方法としてどのような手法があり得るか，との質問が出た．これに対し申請者はガングリオシドに限らず化学物質の物質量を考える際には常に合成と分解の 2 つの段階を考慮しなければならず，細胞レベルで合成酵素の遺伝子を導入したように，生体の局所で合成酵素を発現させる方法とともに，分解酵素の阻害という方法もあると回答した．

次に副査の岩崎教授は，直接の指導教官であることから田中教授，山本教授からの質問に関して申請者の回答を補足し，ガングリオシド等の糖脂質の局在を調べることが困難であると説明した．また，申請者に対しては今後の変形性関節症治療の方向性はどうあるべきかと質問し，これに対して申請者は，今日のような対症療法ではなく，病態を修飾することで軟骨の変性を防いでいくことが重要だと回答した．

最後に主査の近藤亨教授からはインターロイキン 1 以外の炎症性サイトカインについての検討はおこなっているのかとの質問が出た．申請者は TNF-α，IL-6，IL-17 などについても検討する必要があるとした上で, 関節リウマチに関係するといわれている IL-6 と IL-17 は必須ではないが，少なくとも TNF-α での検討は重要であり，現在整形外科学分野の大学院生が研究を進行中であると回答した．また，さらに近藤教授は，ガングリオシドのアポトーシス抑制効果のメカニズムについてどのような報告があるのかと質問し, 申請者はガングリオシドの中でも GM1 と呼ばれる分子で神経組織や心筋，肝細胞におけるアポトーシス抑制効果の報告はあるものの，メカニズムの詳細は明らかではないと回答した．

この論文は OA の病態におけるガングリオシドの機能解析をした非常に有用な研究であり、メカニズムに関するさらなる詳細な研究が必要であるが、ガングリオシドは今後の OA 治療戦略における新しい有用な標的分子となりうるものと期待される。

審査員一同はこれらの成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受ける資格を有すると判定した。