



Title	摩耗軟骨片活性化マクロファージによる変形性関節症進行メカニズムの解明研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	江畑, 拓
Description	配架番号 : 2682
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14938号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85746
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	EBATA_Taku_review.pdf, 審査の要旨



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	江畑 拓
審査担当者	主査	教授	渥美 達也
	副査	教授	小林 弘一
	副査	教授	藤山 文乃

学 位 論 文 題 名

摩耗軟骨片活性化マクロファージによる変形性関節症進行メカニズムの解明研究
(Research on the mechanism of progressive osteoarthritis mediated by inflammatory macrophages
activated by cartilage wear)

変形性関節症(Osteoarthritis: OA) は軟骨変性を主体とした慢性退行性関節疾患であり、疼痛や関節可動域制限によって日常生活動作を制限される。現在 OA 進行を抑制する原因療法は確立されておらず、超高齢化社会を迎える本邦において、OA 原因療法の確立は必須である。

OA 進行の一要因として慢性炎症があるが、その詳細な機序は不明である。OA 関節内の慢性炎症は、Damage associated molecular patterns (DAMPs) によるマクロファージ活性化が重責を担っている。そこで申請者は、この DAMPs の 1 種である摩耗軟骨片活性化マクロファージによる軟骨変性機序を解析することで、慢性炎症による OA 進行機序の一端を解明できると着想し、本研究を行った。

最初に、摩耗軟骨片共培養システムを用いて、摩耗軟骨片活性化マクロファージによって、軟骨細胞の軟骨内骨化シグナルが誘導されることを証明した。続いて、網羅的遺伝子解析の結果から、軟骨細胞の新規分泌因子として「Flightless I」を同定し、その軟骨変性に及ぼす影響を解析した。解析の結果、「Flightless I」が Toll 様受容体 4・Extracellular Signal-regulated Kinase 1/2 シグナリングの活性化を介して、軟骨細胞の肥大分化および軟骨基質分解酵素の放出を促進し、軟骨変性を促進する DAMPs 分子であると結論付けた。

審査にあたり、まず副査の藤山文乃教授から摩耗軟骨片刺激共培養システムについて、マクロファージは作成した摩耗軟骨片のどの部分をリガンドとして認識し活性化するのか質問があった。申請者は、過去に軟骨基質をリガンドとしてマクロファージが活性化することが報告されており、摩耗軟骨片中の変性した軟骨基質がリガンドの 1 種と考えられるが、その他の未知の部位もリガンドとして機能し、マクロファージの活性化に寄与している可能性があるかと回答した。

続いて副査の小林弘一教授からは、前記の質問に付随して、摩耗軟骨片に対するマクロファージの受容体およびその受容体の阻害実験によるマクロファージの炎症反応抑制効果に関して質問があった。申請者は、先行研究の結果より、摩耗軟骨片と結合する受容体として Toll 様受容体 2 や MARCO などが同定され、それらの受容体阻害抗体で治療することで、摩耗軟骨片刺激マクロファージ由来の炎症性サイトカインの放出が抑制できたと回

答した。また、本研究で **Flightless I** を着目した理由について質問があり、摩耗軟骨片刺激マクロファージによる軟骨細胞の遺伝子変化は、骨格成長に必須の過程である軟骨内骨化で見られる遺伝子に近似していたこと、骨格成長や細胞分化などに関わる因子に着目し、発現上昇遺伝子中上位に同定された同因子に着目したと回答した。さらに、**Pull-down assay** で同定した **Toll** 様受容体 4 に関して、**LPS** 混入の可能性を言及された。申請者は、本研究で用いた **Recombinant** タンパクに対して、**Endotoxin test** で毒性を検出されなかったことから、同混入の可能性は否定的と考えると回答した後、より高い信頼性を有する結果を示す手法として、**Positive control** をおくことの重要性についてコメントがあった。

最後に主査の渥美達也教授から、OA 関節内に存在する軟骨細胞をすべて除去できれば OA は抑制できるかについて質問があった。申請者は、軟骨細胞は同化作用と異化作用の両方を有しており、異化作用の亢進がみられる OA 軟骨細胞であっても同化作用の保持のために、軟骨細胞は必要であり、軟骨細胞の劣化を回復させる治療手法が必要と回答した。また、近年の報告から OA や関節リウマチなどの関節内に属するマクロファージには、関節恒常性に寄与するサブタイプがみられることについて言及があった。申請者は、今後の関節疾患に対する治療戦略として、マクロファージ、軟骨細胞両者ともに形質の不均衡や異常な形質を有する細胞を減らし、同化作用－異化作用の均衡を維持することが重要と考えていると回答した。

この論文は、摩耗軟骨片を介した炎症反応による軟骨変性機序を独自の **In vitro** モデルを用いて解析し、その解析結果から軟骨細胞の新規分泌因子を同定、その詳細な分子機序を解析した点において高く評価される。今後、同定した軟骨細胞新規分泌因子である **Flightless I** 機能阻害を標的とした新規 OA 治療薬の開発が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。