

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏名	鈴木 悟 士
論文審査担当者	主 査	整形外科	松 本 守 雄	
	薬理学	安 井 正 人	先端医科学	佐 谷 秀 行
	医化学	末 松 誠		
学力確認担当者	河上 裕		審査委員長	安井 正人
			試問日	平成28年 2月 2日
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名 : Excessive reactive oxygen species are therapeutic targets for intervertebral disc degeneration (過剰な活性酸素種は椎間板変性の治療標的である)				
<p>酸化ストレスは様々な疾患に関与している事が報告されているが、椎間板変性との関係は未だ明らかにされていない。本研究では過剰な活性酸素種 (Reactive oxygen species: ROS) がTumor Necrosis Factor-α (TNF-α)、Matrix metalloprotease-3、Cyclooxygenase-2などの炎症やマトリックス分解に関わる分子の発現上昇や、代表的な軟骨基質であるアグリカンの発現低下に関与し、さらに、上昇したTNF-α自体が細胞内のROSを誘導し、過剰なROSと椎間板変性に関わる炎症の間でpositive feedback loopを形成していることが明らかとなった。加えて、各種の抗酸化剤投与はこれらのROSの作用を抑制する事が判明し、抗酸化剤投与は椎間板変性に対する治療法となる可能性が示唆された。</p> <p>審査では、酸化ストレスの組織学的評価になぜ抗ニトロチロシン抗体を用いたかについて質問された。ニトロ化チロシンの染色は通常一酸化窒素を介したタンパク質の修飾を評価するために用い、一般的な酸素由来のROS生成の指標ではないものの、過去の文献ではニトロチロシンの発現は酸化ストレスと相関するとの報告があり、今回は酸化ストレスの指標として使用したと回答された。また、上昇したニトロチロシンの窒素の由来が、一酸化窒素以外に軟骨に豊富に存在するアミノ糖由来の可能性がないか質問がなされた。サイトカインで誘導された一酸化窒素がニトロ化をもたらした可能性があるという回答されたが、変性椎間板においてアミノ糖がエネルギー基質として利用される可能性など代謝経路について不明な点も多く、今後の研究課題であると回答された。</p> <p>次に、ラット変性椎間板モデルにおけるROSの起源を問われた。穿刺に伴いメカニカルストレスの増大などで線維輪細胞自身が産生すると思われるが、浸潤したマクロファージなどの炎症細胞の関与も否定出来ないという回答された。また、本モデルの妥当性について質問がなされた。本モデルは穿刺に伴う急激なROSの上昇に伴い変性を生じた椎間板変性モデルであり、慢性的な退行性変化に基づくヒト椎間板変性の特徴を完全に再現しているとは言い切れないと回答された。ROSの下流シグナルがmitogen-activated protein kinase であることが述べられているが、この中でも、どのシグナルを主に介しているのか質問された。培養実験において、抗酸化剤N-acetyl cysteine (NAC) の添加で、ROSによるp38のリン酸化のみが抑制されたことから、主な下流シグナルはp38であると回答された。過酸化水素を添加した際のアグリカンのmRNAの発現量の推移の不安定性について質問された。グルタチオン合成阻害剤であるbuthionine sulfoximineと異なり、過酸化水素は細胞内の抗酸化作用により、実験ごとに酸化ストレスの状態が変化することが考えられ、遺伝子発現量の不安定な挙動の一因となる可能性があるという回答された。最後に、椎間板変性モデルにおけるNACの効果が穿刺後投与でも得られるかどうかについて質問がなされたが、穿刺後からNACを投与した場合でもニトロチロシンの発現量は抑制され、MRI上も椎間板変性が抑制されている結果が得られていると回答された。</p> <p>以上、本研究には検討すべき課題を残すものの、過剰なROSが椎間板変性をもたらす分子メカニズムを解明し、また、抗酸化剤であるNACが椎間板変性に対する有効な治療法となる可能性を明らかにした点で、非常に有意義な研究であると評価された。</p>				