

論文の内容の要旨および論文審査の結果の要旨

学位申請者氏名：高橋 樹

学位の種類：博士（食品栄養学）

学位記番号：博（健）甲第34号

学位授与年月日：令和8年3月2日

指導教員名：下川 哲昭

審査委員：主査 高崎健康福祉大学教授 飯塚 陽一

副査 高崎健康福祉大学教授 應本 真

副査 伊勢崎市民病院整形外科主任診療部長

飯塚 伯

論文題目

Gene expression and signaling pathways in the lumbar spine of a rat model of congenital kyphoscoliosis

先天性脊柱後側弯症モデルラットの腰椎における遺伝子発現およびシグナル伝達経路

【論文の内容の要旨】

はじめに

ヒトの脊柱は、正面から見ると真っ直ぐだが側面から観察すると S 字状に弯曲している。これを生理的弯曲といい、直立姿勢の保持や歩行時の衝撃吸収に寄与し、身体を支える役割を担っている。先天性脊柱後側弯症は、先天的な椎体の異常により脊柱が生理的弯曲を超えて変形する疾患である。現在まで外科的手術以外の根治的な治療法は確立されておらず、その発症メカニズムは未だ明らかではない。本論文では、形態学的・分子生物学的・発生学的観点から、先天性脊柱後側弯症の発生機構を多面的に解析し、その発生メカニズムを包括的に理解するための新たな視点を提示することを目的とする。

1. 脊柱の構造と機能的特徴

第 1 章では、脊柱の構造と機能について概説した。脊柱は水中から陸上への移行に伴って支持性と可動性を獲得し、椎骨と椎間円板を基盤とする構造へ発達した。頸部・胸部・腰部では、部位ごとの機能要求に応じて形態が最適化されている。

2. 脊柱後側弯症

第 2 章では、脊柱の代表的な疾患である脊柱後側弯症について述べる。脊柱の生理的弯曲は、加齢や外的要因、または先天的・遺伝的要因等によって破綻をきたすことがある。なかでも、脊柱後側弯症 (Kyphoscoliosis) は、脊柱の生理的弯曲を逸脱して起こる変形であり、後弯と側弯が複合した三次元的な脊柱変形である。

3. 先天性脊柱後側弯症モデル動物による解析

第 3 章では、当研究室の先行研究で明らかになった先天性脊柱後側弯症モデル動物である Ishibashi rat (ISR) を使った研究成果を示した。1) 生体構造の位置決定に関与するホメオ

ティック遺伝子 (Hox) や 2) 神経成長因子の受容体である Trk ファミリー、3) 正常な骨形成に必要なレチノールの代謝関連酵素群、4) 骨芽細胞の分化マーカーである I 型コラーゲン遺伝子等の発現の異常が本疾患の発症に関与する可能性を指摘してきた。

4. カルシウムシグナル関連遺伝子の解析

第 4 章では、後側弯症とカルシウム代謝における解析を詳細に解析した。前章で概説した通り、ISR の先天性脊柱後側弯症の病態解明において複数の分子メカニズムの関与が示唆されている。一方で、カルシウム恒常性の維持は正常な骨形成と骨代謝に不可欠であるが、これまでに本疾患におけるカルシウム代謝の解析はされていない。新たな実験として ISR の腰椎におけるカルシウムシグナルに関連する遺伝子動態を解析し、本疾患との相関を検討することを目的とした。

生後 4 日目のラット (Wt, ISR) の第 3-5 腰椎を摘出し、DNA マイクロアレイ、リアルタイム PCR を用いてカルシウムシグナルに関連する遺伝子の発現を解析した。変動した遺伝子のタンパク質レベルをウエスタンブロッティングや免疫組織化学染色を用いて解析した。加えて、血清カルシウム濃度と骨中カルシウム含量を比較し、本疾患における腰椎のカルシウムシグナリングの解析を行った。

ISR の腰椎では、血中 Ca^{2+} を感知する Ca^{2+} 感受受容体 (CaSR) や温度感受性イオンチャネル (Trpv1)、正常な骨形成を制御する因子 (Nell1 や JNK1 等) の遺伝子発現に有意な低下がみられた。また、 Ca^{2+} により活性化されるプロテインキナーゼ C (PKC) と活性化されたリン酸化 PKC (p-PKC) のタンパク質レベルの有意な低下がみられた。さらに、血清中のカルシウム濃度は、ISR で低い傾向がみられ、骨中では有意な低下がみられた。

以上より、カルシウムの感知やシグナル伝達に関わる遺伝子発現の低下により、カルシウム恒常性の破綻を引き起こすことが本疾患発症の一つの要因であることが強く示唆された。

包括的な考察

ISR における先天性脊柱後側弯症は、「Hox 遺伝子異常による骨格パターン形成不全」、「神経栄養因子受容体の発現低下」、「レチノール代謝関連酵素の異常による代謝障害」、「miRNA 異常を介したコラーゲン産生不全」、「カルシウム恒常性の破綻」が複合的に絡み合うことで発症・進行する多因子性の疾患であると結論付けられる。我々が提示するこの多角的な病態モデルは、ヒトの先天性脊柱後側弯症の理解を深める上で、新たな視点を提供するものと考えられる。

本研究は動物モデルを用いた基礎研究のため、ヒトへの応用には限界がある。今後は、先天性脊柱後側弯症患者由来のサンプルで解析する必要がある。

「論文審査の結果の要旨」

本論文は、先天性脊柱後側弯症の発症機構を解明することを目的として、先天性脊柱後側弯症モデルラットである Ishibashi rat (ISR) を用い、形態学的、分子生物学的および発生学的

観点から包括的な解析を行った研究についての論文である。

申請者は、脊柱形成に関与する遺伝子群およびシグナル伝達経路に着目し、Hox 遺伝子、神経栄養因子受容体、レチノール代謝関連酵素、コラーゲン関連遺伝子などの発現異常が本疾患の発症に関与する可能性を示したこれまでの研究成果をさらに発展させ、カルシウム代謝およびカルシウムシグナル伝達系に着目し、DNA マイクロアレイ、リアルタイム PCR、ウェスタンブロッティング、免疫組織化学的手法などを用いて詳細な解析を行った点に、本研究の特徴がある。

その結果、ISR の腰椎において Ca^{2+} 感知受容体、 Ca^{2+} 透過性イオンチャネル、骨形成関連因子ならびにプロテインキナーゼ C 関連分子の発現低下が認められ、カルシウム恒常性の破綻が本疾患の発症に関与する重要な要因である可能性を明らかにした。これらの成果は、先天性脊柱後側弯症の病態形成に関する新たな分子基盤を提示するものであり、学術的意義は高いと評価できる。

本論文審査にあたっては、主査および副査による厳正な審査に加え、論文発表会および最終試験において、申請者による研究内容の発表ならびに質疑応答が行われた。申請者は、自身の研究背景、目的、方法および結果について明確に説明し、各審査委員からの専門的かつ高度な質問に対しても、適切かつ論理的に回答した。

特に、研究成果の意義や限界、今後の研究展開に関する理解は十分であり、基礎研究から臨床応用への発展可能性についても的確な考察がなされていた。また、関連分野に関する幅広い知識と高い研究遂行能力を有していることが確認された。

以上により、論文審査および最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士（食品栄養学）の学位に十分値するものであると判断した。