

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 井 辻 智 典

主論文 1 編

Hepatocyte growth factor regulates HIF-1 α -induced nucleus pulposus cell proliferation through MAPK-, PI3K/Akt-, and STAT3- mediated signaling.

Journal of Orthopaedic Research, Epub ahead of print

審 査 結 果 の 要 旨

椎間板は中心部の髄核と外層の線維輪から構成され、体幹の支持性に関与する。椎間板変性は、腰痛や脊椎由来の神経症状を引き起こす。椎間板は無血管組織で生理的に低酸素環境にあり、髄核細胞の増殖能が低く再生しにくいいため、変性予防が重要となる。髄核細胞において肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor : HGF と略) の特異的受容体である c-Met が発現し、HGF/c-Met シグナルが髄核細胞の細胞増殖を促進し、アポトーシスや基質分解を抑制することが明らかにされているが、その詳細な機序は不明である。一方、細胞の低酸素応答で中心的な役割を担う転写因子である低酸素誘導因子 (hypoxia inducible factor : HIF と略) -1 α は、髄核細胞の細胞増殖や基質代謝を調節し、椎間板変性に関与する。本研究の目的を HGF が髄核細胞の細胞増殖を促進する機序を HIF-1 α 産生の観点から明らかにすることとした。

申請者は、日本白色家兎の腰椎椎間板より単離した髄核細胞を低酸素下 (2% O₂) HGF (100ng/ml) 投与群、定常酸素下 (20% O₂) HGF 投与群、低酸素下 HGF 非投与群および対照群の 4 群に分け 7 日間培養した。低酸素下 HGF 投与群の培養髄核細胞に HIF-1 α を標的とする siRNA (si-HIF-1 α と略) を導入した。また、mitogen-activated protein kinase (MAPK と略) 阻害剤、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K と略) /Akt 阻害剤および signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3 と略) 阻害剤を添加した。細胞増殖能の評価には water soluble tetrazolium salts-8 法と lactate dehydrogenase (LDH と略) 法を用い、HIF-1 α の蛋白産生を western blotting 法で解析した。低酸素下 HGF 投与群の髄核細胞では、他の 3 群と比較して培養 5, 7 日目で有意に細胞増殖が促進された。いずれの群においても培養 7 日目の LDH 放出量に有意差を認めなかった。髄核細胞の HIF-1 α 産生は低酸素刺激で誘導され、HGF 投与により有意に増大した。HIF-1 α 産生は si-HIF-1 α 導入によって抑制され、低酸素刺激と HGF 投与で促進した細胞増殖は si-HIF-1 α 導入により抑制された。また、各阻害剤の投与は濃度依存的に髄核細胞の HIF-1 α 産生を低下させ細胞増殖を抑制した。低酸素環境の培養髄核細胞において HGF が HIF-1 α 産生を介して細胞増殖を促進することが明らかとなった。また、HGF が髄核細胞の HIF-1 α 産生を MAPK, PI3K/Akt および STAT3 経路で促進することが示された。生理的に低酸素環境にある髄核細胞では、独自の HIF-1 α 産生調節機構によって恒常性を維持しており、この調節機構の破綻が椎間板変性を引き起こす一因と考えられている。近年、低酸素以外のさまざまな因子による髄核細胞の HIF-1 α 産生調節が明らかにされている。本研究の結果から HGF/c-Met シグナルも髄核細胞の HIF-1 α 産生を調節して椎間板変性を制御している可能性があると考えた。

以上が本論文の要旨であるが、HGF が髄核細胞の細胞増殖を促進する機序には HIF-1 α 産生の増大が重要な役割を果たすことを明らかにした点で、椎間板変性への病態解析や治療法への応用が期待され、医学上価値ある研究と認める。

令和 2 年 9 月 17 日

審査委員 教授 高 橋 謙 治 印

審査委員 教授 上 原 里 程 印

審査委員 教授 松 田 修 印