




学位論文審査の結果の要旨

平成30年12月27日

審査委員	主査	葉不伸一 		
	副主査	田宮 隆 		
	副主査	村尾 孝 兎 		
願出者	専攻	機能構築医学	部門	組織化学
	学籍番号	14D709	氏名	藤原龍史
論文題目	Histomorphometry of ectopic mineralization using undecalcified frozen bone sections			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 ・ <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			

〔 要 旨 〕

後縦靭帯骨化症に対する組織学的検討により、骨化部でのBMP2, BMPRI1A, Connexin43などの発現が確認されている。これらの蛋白質が異所性骨化に関与すると推測されているが、蛋白質の発現と骨形成との相関関係について組織学的に検証した報告はない。本研究の目的は非脱灰凍結切片作製技術を用いることによって、蛋白質の発現と骨形成の相関を分析することである。

異所性骨化モデルマウス (TWY/Jic-ttw) とコントロールマウス (Jcl:ICR) 各5匹に対して骨指向性蛍光プローベを投与後に安楽死処置を行い、摘出した胸椎を用いて非脱灰凍結切片を作製した。TWYの線維輪ではvon Kossa染色で染色させる境界明瞭な石灰沈着を認め、同部位はアルシアンブルー染色では境界不明瞭に染色されていた。TWYでは骨形成が亢進し、線維輪においてはConnexin43の発現が亢進していたものの、これらの画像解析ソフトによる定量値に統計学的に有意な相関は認めなかった。

蛋白質の発現と骨形成との相関を認めなかった理由として、①異所性骨化の形成には複数の過程が必要であること、②異所性骨化部の免疫染色の画像解析ソフトによる定量が正確にできていないこと、③免疫染色の画像解析ソフトによる定量値が蛋白質の発現量と線形相関する保証がないことが考えられた。今後、更に染色法や画像解析法の改良も必要であるが、非脱灰凍結切片作製技術を用いた連続切片での免疫組織学的観察は、異所性骨化の病態を詳細に評価することに有用であり、応用発展が期待される。

本研究に関する学位論文審査委員会は平成30年12月26日に行われた。以下に示す様々な質疑応答が行われたが、それぞれに対して適切な回答が得られた。

1. 本論文で免疫染色した蛋白質を選択した理由
2. 本論文で提示している蛋白質以外の蛋白質の解析結果
3. 石灰化前線を二重標識しているが、異所性骨化部でそれらを区別できるのか
4. ヒトの頸椎後縦靭帯骨化症に対して本論文の研究手法を応用できるのか
5. Connexin43が異所性骨化に関与する機序について
6. 免疫染色以外の定量手法についての検討
7. TWYとヒトの頸椎後縦靭帯骨化症との相違点について
8. Connexin43の局在に極性があるが、その理由についての考察はあるか
9. 今後の臨床応用への展望は
10. 蛍光抗体法の適用の可能性

本論文は異所性骨化部の組織学的検証に非脱灰凍結切片作製技術を応用することの有用性を指摘する論文であり、結果に対しては研究手法の問題点や改善策も踏まえた上で十分な考察がなされている。本研究は、異所性骨化の病態を詳細に評価する組織学的検証方法を確立した点に意義があり、本審査委員会では審査員全員一致して博士（医学）論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲 載 誌 名	Microscopy Research and Technique			第81巻, 第11号
(公表予定) 掲 載 年 月	2018年10月	出版社 (等) 名	Wiley	

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。