

京都大学	博士（ 医 学）	氏 名	山 中 茂 樹
論文題目	Circulatory CNP rescues craniofacial hypoplasia in achondroplasia (C型ナトリウム利尿ペプチドの血中濃度上昇により軟骨無形成症の顎顔面形態異常は改善される)		
(論文内容の要旨)			
<p>顎顔面骨は、膜性骨化と内軟骨性骨化が複雑に混在して成長することが知られており、軟骨無形成症（achondroplasia）は、四肢管状骨の長径成長障害のほか、中顔面の劣成長および大後頭孔の狭窄をきたすことが知られている。これまで、強力な内軟骨性骨化促進因子である C 型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の投与により、軟骨特異的 G380R 型変異 FGFR3 トランスジェニックマウス（軟骨無形成症モデルマウス（<i>Fgfr3^{ach}</i>マウス））の骨伸長障害・低身長が改善することが報告されてきたが、顎顔面形態への CNP の作用についての報告はなかった。</p> <p>そこで、本研究の目的は、軟骨無形成症患者に認められる顎顔面形態異常の発症原因やメカニズムを探るとともに、CNP の血中濃度上昇により顎顔面形態異常が改善できるか検討を行った。</p> <p>μCT 画像による 3 か月齢軟骨特異的 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの顎顔面形態解析を行ったところ、ヒトと同様に中顔面の矢状方向への劣成長や大後頭孔の狭窄を認めた。中顔面の成長には、頭蓋底における成長中心である蝶形骨間軟骨結合部(ISS)と蝶後頭軟骨結合部（SOS）の内軟骨性骨化による成長が重要とされている。中顔面劣成長のメカニズムを明らかにするために、10 日齢 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの組織学的解析を行った。<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの ISS と SOS の軟骨結合部の幅は狭窄しており、免疫染色により、増殖軟骨細胞層のマーカーであるⅡ型コラーゲンや肥大化軟骨細胞層のマーカーである X 型コラーゲンの染色領域の減少を認めた。さらに、SOS 中心部に血管新生やアポトーシスを伴った早期骨化を認めた。また、大後頭孔の成長には、前後頭骨軟骨結合部(AIOS)や後後頭内軟骨結合部(PIOS)の内軟骨性骨化による成長が関与するとされているが、<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスでは AIOS の狭小化と PIOS の早期骨化を認めた。</p> <p><i>Fgfr3^{ach}</i> マウスに認められた顎顔面形態異常に対し、ヒトアミロイド P プロモーターを用いて CNP を肝臓特異的に発現させ血中 CNP 濃度が増加するトランスジェニックマウス（<i>SAP-Nppc-Tg</i> マウス）との交配によるレスキュー実験を行った。交配で得られた <i>Fgfr3^{ach} /SAP-Nppc-Tg</i> マウスでは、CNP の血中濃度上昇により上顎の劣成長や大後頭孔の狭窄は有意に改善した。<i>Fgfr3^{ach} /SAP-Nppc-Tg</i> マウスの組織学的解析の結果、<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスで認められた SOS、PIOS での早期骨化については CNP の影響は認めなかったが、ISS、SOS、AIOS の狭小化は CNP による内軟骨性骨化の促進により改善していた。</p> <p>成長過程における CNP の作用を検討する為に、<i>Fgfr3^{ach}</i> マウス由来頭蓋底培養体に CNP10⁻⁷M を添加して器官培養を行ったところ、有意に ISS、SOS、AIOS の伸長が促進した。さらに、<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの鼻中隔軟骨から軟骨細胞を採取して三次元培養を行い、CNP10⁻⁷M の添加を行ったところ、CNP の添加により X 型コラーゲンおよび軟骨基質のマーカーであるアグリカンの発現が上昇した。</p> <p>本研究において、<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスにおける顎顔面形態異常は、軟骨結合部における内軟骨性骨化の抑制および早期骨化により生じることが明らかとなった。</p>			

また、CNP 濃度の上昇は、顎顔面領域における軟骨結合部や鼻中隔軟骨の内軟骨性骨化を促進させることにより、顎顔面異常を改善することが示唆された。この研究成果は、CNP 投与が軟骨無形成症など骨系統疾患を対象とした新たな治療法となりうる可能性を示唆するものである。
(論文審査の結果の要旨)
軟骨無形成症患者に認められる顎顔面形態異常の発症原因を探るとともに、C 型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の治療における有効性について検討した。軟骨無形成症モデルマウス（ <i>Fgfr3^{ach}</i> マウス）は、ヒトと同様に中顔面矢状方向への劣成長や大後頭孔狭窄を認めた。 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの蝶形骨間軟骨結合（ISS）、蝶形後頭軟骨結合（SOS）、前後頭内軟骨結合（AIOS）の狭小化を認め、SOS、後後頭内軟骨結合（PIOS）の早期閉鎖を認めた。
<i>Fgfr3^{ach}</i> マウスに認められた顎顔面形態異常に対し、ヒトアミロイド P プロモーター下
に肝臓特異的に CNP を発現させて血中 CNP 濃度が増加したトランスジェニックマウス
との交配実験で得られたマウスでは、上顎の劣成長や大後頭孔の狭窄は有意に改善してい
た。 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスで認められた SOS、PIOS の早期閉鎖については CNP の影響を認め
なかったが、ISS、SOS、AIOS の狭小化は改善された。また、 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスから採取し
た組織に CNP を添加して器官培養を行ったところ、有意に ISS、SOS、AIOS の長さが
増加した。さらに、 <i>Fgfr3^{ach}</i> マウスの鼻中隔軟骨から軟骨細胞を採取して三次元培養を行
い、CNP の添加を行ったところ、軟骨細胞の肥大化および基質産生の増大を認めた。これ
により、CNP は顎顔面領域における内軟骨性骨化を促進させ、顎顔面異常を改善するこ
とが示唆された。
以上の研究は、軟骨無形成症の病態の解明に貢献し、CNP が軟骨無形成症など顎顔面形
態異常をきたす疾患に対し新たな治療法となりうる可能性を示唆するものであり意義は
大きい。
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 8 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問
を受け、合格と認められたものである。
要旨公表可能日
年 月 日