

# 論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	関谷 健夫
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳  副査 戸苺 彰史  服部 正巳  宮澤 健		
論文題名	ヒト骨髄由来破骨細胞形成の個体差を生じる 要因の解析		

インターネットの利用による公表用

近年、矯正歯科治療に伴う歯の移動や歯根吸収など生体反応に関する基礎的研究が行われているが、そのメカニズムはいまだ未解明な部分が多い。矯正歯科治療では、多数の患者に同様の治療を行っても、歯の移動速度が異なったり、歯根吸収や歯槽骨吸収などの副作用の頻度や程度に大きな個人差が起こったりすることが知られている。これらは、生体内において破骨細胞の発現と関連があると報告されている。そこで、本研究では、破骨細胞分化について、個体差を生じる要因の解析を行うことにした。

骨代謝は、骨芽細胞と破骨細胞が、それぞれ骨形成と骨吸収を繰り返すことにより、バランスを常に保ち、骨量を一定に保っている。破骨細胞分化を促進させる因子としてサイトカインは重要であり、その中でも  $\text{TNF}\alpha$  は骨吸収を促進させるサイトカインとして、骨周囲の炎症部位において多くの発現が認められる。一方、生体内での低酸素状態も破骨細胞形成を促進させ、すでに我々は、低酸素刺激がマウスの骨髄から破骨細胞への分化を促進することを見出し、低酸素が骨吸収を引き起こす機構の一つとなる可能性を示した。さらに Nomura らは、マウス骨髄とヒト骨髄とを比較して破骨細胞形成が誘導される条件が異なると報告しており、過去の破骨細胞誘導実験においてもヒトとマウスでは異なった結果が示されている。そこで本研究では、より臨床に反映されやすい知見を得るため、ヒト骨髄を用いて研究を行っている。

これまでの研究で、ヒト骨髄由来破骨細胞の分化・増殖には、提供患者

別に個体差があることが分かってきている。そこで、このヒト骨髄由来破骨細胞形成の個体差を生じる要因を解析することを目的とし、その要因を見出すことが出来れば、矯正歯科治療においても、個々における歯の動きやすさの予測や評価、また歯根吸収や歯槽骨吸収などの副作用の予測が可能になるのではないかと推測し、研究を行った。

まず初めに、安定的なヒト骨髄から破骨細胞を分化させるための細胞培養の最適条件を決定することにした。そこで、申請者は RANKL、M-CSF のサイトカインに加え、低酸素環境で、さらに TNF $\alpha$  を加えたところ、TRAP 陽性細胞が安定して誘導されたことから、この条件下で、実験を進めた。

次に、先の条件で細胞培養を行い、13 人の骨髄提供者別に TRAP 陽性の細胞総数、大型細胞数、小型細胞数を計測した。細胞総数、大型細胞数、小型細胞数とも、特に一定の傾向はなく非常に個体差が大きい結果となった。さらに、骨髄提供者の年齢とそれぞれの細胞数との相関を調べたが、有意な相関は確認できなかった。

そこで、13 人の骨髄提供者の内、無作為に 5 人を抽出し、その個体差を生じる要因を解析するために qRT-PCR を用いて、骨髄採取直後における破骨細胞の増殖・分化に関わる遺伝子の mRNA 発現量を解析した。骨代謝に関連するといわれている RANK、CSF1R、TNFR1、TNFR2、CD14、c-KIT、Sca-1 の遺伝子を確認した。それぞれの遺伝子発現量と患者別の細胞総数、大型細胞数、小型細胞数との相関を調べたところ、細胞総数、小型細胞数と遺伝子

発現量には、相関が確認できなかったが、大型細胞数とRANK、CSF1R、TNFR2、CD14の4つの遺伝子発現量とは有意な相関が確認できた。すなわち、細胞培養前の段階における、ヒト骨髄から回収したリンパ球層内にRANK、CSF1R、TNFR2、CD14を発現している細胞が多く含まれていると、大型破骨細胞が形成されやすく、成熟破骨細胞へ分化が促進しやすい状況にあることを意味していると考えられた。

この遺伝子の内、RANK、CSF1R、CD14は破骨細胞に分化する起源である造血幹細胞由来の細胞が発現している。一方、間葉系幹細胞が発現しているTNFR2との著しい相関も得られた。今回の結果は、破骨細胞形成能は造血幹細胞由来細胞のみならず、その周囲にある間葉系幹細胞由来細胞からも影響を受けると考えられ、ヒト骨髄から採取した細胞には、個人により含まれている破骨細胞形成に関連する造血幹細胞と間葉系幹細胞から構成される細胞集団の差が存在し、このことが破骨細胞形成の個体差に影響を及ぼしていることを推測した。

以上、本研究は、破骨細胞形成の個体差を生じる要因を解析することで、個人による骨代謝の指標を推測できる可能性を提示しており、今後の歯科矯正学のみならず関連諸学科に寄与するところが大きい。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。