

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	佐々木 恵理
論文審査 委員氏名	主査 副査	後藤 滋巳 濱村 和紀 鈴木 崇弘 宮澤 健	
論文題名	ガングリオシド GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損 マウスにおける骨芽細胞の減少による骨形成 の減弱		

インターネットの利用による公表用

歯科矯正学分野では、歯の移動時において、様々な要因により歯槽骨代謝が制御されていることが解明されてきたが、矯正力に関わる歯槽骨代謝への影響とガングリオシドとの関連性については不明である。

体の恒常性維持にガングリオシド GM2/GD2 合成酵素が果たす役割が GM2/GD2 合成酵素遺伝子欠損 (GM2/GD2S KO) マウスの解析により解明されている。本研究では、3次元マイクロコンピュータ断層撮影(3D- μ CT)を用いて、野生型 (WT) および GD1a が欠損している GM2/GD2S KO マウスの大腿骨海綿骨量を解析することにより、GD1a を含むガングリオシドの骨代謝への関与を検討した。また、ヘマトキシリンエオシン (HE) および酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) を用いて骨の組織形態学的計測を行い、それぞれ骨形成と骨吸収を評価した。さらに、カルセイン二重標識による骨形成の評価も行い、以下の結果を得ている。

1. マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞では、GM3 および GD1a の発現が認められた。成熟骨芽細胞への分化誘導後、GM3 および GD1a の発現レベルは低下した。また、GD1a は TLC 解析でも検出された。
2. RAW264.7 細胞では、GM3、GM1、GD1a、GD3、GD2、および GD1b の発現が認められた。RAW264.7 細胞の破骨細胞への分化誘導後、これらのガングリオシドの発現レベルは低下した。また、GD1a は TLC 解析でも検出された。
3. WT マウス由来の骨芽細胞では GD1a の発現が認められた。一方、GM2/GD2S

KO マウス由来の骨芽細胞では GD1a の発現は認められなかった。また、GM2/GD2S KO マウス由来の骨芽細胞における GM3 の発現レベルは、WT マウス由来の骨芽細胞よりも高かった。MC3T3-E1 細胞において、*B4galnt1* に対する siRNA を用いてノックダウンさせると、*B4galnt1* は約 90%減少した。また、GD1a は、GM2/GD2 合成酵素のノックダウンによってほとんど発現が認められなかった。一方、GM3 の発現レベルは、GM2/GD2 合成酵素遺伝子のノックダウンによって上昇した。

4. WT マウス由来の前破骨細胞では、主に GM3、GD1a、および GD3 の発現が認められた。また、GD1a は、GM2/GD2 合成酵素のノックアウトによって発現が認められなかった。GM2/GD2S KO マウス由来の骨芽細胞と同様に、GM2/GD2S KO マウス由来の前破骨細胞でも GM3 の発現上昇が認められた。
5. WT マウスと GM2/GD2S KO マウスの間では、大腿骨海綿骨の骨量パラメーターおよび体重に有意な差は認められなかった。
6. 骨形成のパラメーターである骨石灰化面 (MS/BS)、骨石灰化速度 (MAR)、および骨形成速度 (BFR) は、WT マウスよりも GM2/GD2S KO マウスで有意に減少した。
7. GM2/GD2 合成酵素の欠損による大腿骨海綿骨の骨芽細胞数の減少
骨芽細胞数のパラメーターである骨表面に対する骨芽細胞数 (Ob. N/BS) および骨表面に対する骨芽細胞面 (Ob. S/BS) は、WT マウスよりも GM2/GD2S KO マウスで有意に減少した。

8. 破骨細胞数のパラメーターである骨表面に対する破骨細胞数 (Oc. N/BS) および骨表面に対する破骨細胞面 (Oc. S/BS) は、WT マウスよりも GM2/GD2S KO マウスでわずかに低下したが、有意な差は認められなかった。

これらの結果から、WT マウスと GM2/GD2S KO マウスの間で骨量には有意な差は認められなかったが、骨の組織形態学的解析、カルセイン二重標識を用いた解析により、GM2/GD2S KO マウスでは WT マウスよりも骨芽細胞数が減少し、骨形成能が有意に低下していることを見出した。本研究により、骨芽細胞におけるガングリオシドの発現パターンの変化が、骨形成に影響を及ぼすことが明らかになり、将来、ガングリオシドが骨粗鬆症の治療や予防に臨床応用できる可能性があると考えている。これは、歯科矯正学のみならず関連諸分野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。