

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	山口 大輔
論文審査 委員氏名	主査 副査	服部 正巳 田中 貴信 戸荻 彰史 中村 洋	
論文題名	骨形成条件下の培養骨髄細胞に低出力超音波パルス照射したときの遺伝子応答		

インターネットの利用による公表用

低出力超音波パルス (Low Intensity Pulsed Ultrasound ; LIPUS) は骨組織の治癒を促進させることを目的として歯科および整形外科領域で多く使用されている。これまでの研究で、骨髄組織から骨芽細胞様細胞を分化させる際に LIPUS を照射すると骨芽細胞様細胞の分化や石灰化が促進されることが報告されているが、遺伝子発現を網羅的に示した報告は少なく、その詳細は明らかとは言えない。そこで本研究は、ラット骨髄から骨芽細胞様細胞を分化させて培養する際に LIPUS を照射し、発現する遺伝子を網羅的に解析することで、LIPUS が骨芽細胞様細胞の分化に及ぼす機序について探索することを試みている。具体的にはラットの大腿骨から採取した骨髄細胞を、骨芽細胞分化誘導培養液に懸濁した後培養し、培養 3 日目から、LIPUS を照射し (1) 細胞増殖試験 (WST-8 法)、(2) コラーゲン生成量 (Sirius Red 染色)、(3) 石灰化 (Alizarin Red S 染色)、(4) 遺伝子発現の網羅的解析 (cDNA マイクロアレイ法、Real-Time PCR 法) を行い、LIPUS を照射しないコントロール群と比較し検討している。

結果をまとめると、LIPUS 照射群ではコントロール群と比較して培養 7 日目において細胞数の減少傾向が確認された。コラーゲン生成量は培養 10 日目において Control 群よりも LIPUS 照射群において有意に多く認められた。培養 10 日目、14 日目、21 日目において LIPUS 照射群は Control 群よりも有意に石灰化結節の染色面積が広がった。また LIPUS 照射群で発現が 2 倍以上上昇した遺伝子のうち、発現量の多い遺伝子を分類すると下述の通

りである。

- 1) 骨芽細胞の分化マーカー : Osteocalcin, Osteopontin
- 2) 骨細胞の分化マーカー : dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (Dmp1), matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE), phosphate regulating endopeptidase homolog, X-linked (Phex)
- 3) コラーゲン関連遺伝子 : collagen type XI, alpha 2 (Col11a2), collagen triple helix repeat containing 1 (Cthrc1), lysyl oxidase (Lox)
- 4) 細胞接着に関する遺伝子 : thrombospondin 1 (Thbs1), cell adhesion molecule 1 (Cadm1)
- 5) その他の細胞外基質に関する遺伝子 : carboxypeptidase Z (CPZ), leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 4 (LGR4), dickkopf homolog 1 (Dkk1), tissue inhibitor of metalloproteinase (Timp1)
- 6) 神経伝達物質 : galanin prepropeptide (Gal)

これらの Entity list に対して Real-time PCR を行った結果、全ての遺伝子において LIPUS 照射群ではコントロール群よりも有意な遺伝子発現の上昇が認められた。

以上から、本研究は骨形成条件下の培養骨髄細胞に LIPUS を照射した際に発現する遺伝子群を明らかにした。これらの基礎データは骨再生療法にお

(論文審査の要旨)

No. 3

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

ける重要な情報を提示していると考えられる。本論文は歯科補綴学、歯科薬理学、歯科保存学および関連諸学科に寄与するところが大きく、よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与するに値するものと判定した。

平成26年 1月29日