

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	後藤 洋
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳 副査 戸苅 彰史 金森 孝雄 宮澤 健		
論文題名	破骨細胞形成のための微小環境構成細胞の 同定		

インターネットの利用による公表用

矯正歯科材料の飛躍的な発展に伴い、歯科矯正治療の手法は日々進歩を遂げ続けている。最近では、歯科矯正用アンカースクリューが薬事承認を受けたことにより、歯科矯正治療はさらに発展していくと予想される。一方、歯科矯正治療に伴う歯の移動についての基礎的研究も行われている。歯の移動時には、歯槽骨における骨芽細胞と破骨細胞のカップリングが重要な役割を担うと報告されているが、これまでの骨髄細胞を用いた実験では多様な細胞や因子が存在する混合培養が多く、歯の移動に関するメカニズムの詳細はいまだ未解明な部分が多い。

骨恒常性は骨形成に関与する骨芽細胞と骨吸収を担う破骨細胞のバランスによって成立している。骨芽細胞は間葉系幹細胞由来であるのに対し、破骨細胞は骨髄球系の単球・マクロファージ系細胞由来であり、骨芽細胞が分泌する Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) や receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) といったサイトカインや、その他の破骨細胞分化誘導因子が骨髄における破骨細胞前駆細胞の分化を誘導する。

また骨髄では破骨細胞、骨芽細胞、血管内皮細胞、間質細胞、免疫細胞など多様な細胞で構成される微小環境が存在し、骨恒常性の維持以外にも造血幹細胞の維持および分化など重要な役割をもつことが報告されている。

Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) は骨髄における間質細胞から分泌されケモカインの一つであり、CXC chemokine receptor type 4 (CXCR4) に結合する。CXCR4 陽性細胞は SDF-1 濃度勾配に従って遊走、集積し、細胞

生存にとって重要な微小環境を構成している。SDF-1は非破骨細胞から産生され破骨細胞形成を促進することは明らかになっているが、詳しい役割の解明には至っていない。

そこで、破骨細胞分化にとって適切な微小環境を構成する細胞集団を同定し、破骨細胞と非破骨細胞間の相互作用を明確にすることを本研究の目的とした。そのためフローサイトメーターを利用し、微小環境を構成するそれぞれの細胞集団を正確に回収して破骨細胞培養を行い、細胞集団自身がおもつ破骨細胞分化能および破骨細胞前駆細胞を分化させるメカニズムについて解析を行った。以下に結果を示す。

1. マウス骨髄細胞集団から白血球(CD45⁺ cells)を除去すると破骨細胞数が減少したが、赤血球(Ter-119⁺ cells)を除去しても破骨細胞形成に影響を与えなかった。その他の非血球系細胞(Ter-119⁻CD45⁻ cells)を除くと大きな破骨細胞数のみ減少した。
2. 破骨細胞前駆細胞の一つであるCD11b⁺ cellsを除いた集団を培養すると破骨細胞数が減少する傾向があるものの、有意差をもって減少することはなかった。
3. CXCR4⁺ cellsとCXCR4⁻ cellsの比較では、CXCR4⁻ cells由来の破骨細胞数がCXCR4⁺ cells由来の破骨細胞数を上回る結果となった。それぞれの細

胞集団の細胞構成を比較したところ、破骨細胞前駆細胞の1つと考えられる CD11b⁺ cells は CXCR4⁻ cells に多く含まれていた。

4. CXCR4 陽性でかつ非血球系集団である CXCR4⁺ CD45⁻ cells が骨髄細胞から除かれると、有意差をもって大きな破骨細胞数が減少した。

5. 定量的 RT-PCR 解析の結果、CXCR4⁺ CD45⁻ cells は RANK および RANKL を発現せず、SDF-1, CX3CL1, CXCL7 などのケモカインや幹細胞因子である KITL (kit-ligand) を高発現していた。

本研究において、フローサイトメーターを用いてマウス骨髄細胞から特定の細胞集団を回収し、各細胞集団による破骨細胞分化の違いを検討しその分子メカニズムを解析した。その結果、CXCR4⁺ CD45⁻ cells は RANK および RANKL を発現せず破骨細胞分化能を持たないが、破骨細胞形成に影響を与えていた。さらに、CXCR4⁺ CD45⁻ cells は細胞の遊走・集積を促すケモカインや幹細胞因子を発現していた。すなわち、CXCR4⁺ CD45⁻ cells は、これらのケモカインや幹細胞因子に感受性をもつ細胞の遊走、集積、生存を促進することで破骨細胞形成にとって適切な微小環境を作り出す重要な細胞の一つである可能性が示唆された。

本研究は、破骨細胞形成における骨髄内の適切な微小環境を解明していく上で重要な情報を提供しており、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

(論文審査の要旨)

No. 4

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

ものと判定した。

平成27年 1月15日