

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	森 寛典
論文審査 委員氏名	主査		印
	副査		印
			印
			印
論文題名	ラットの歯髄由来の培養上清は破骨細胞前駆細胞の接着を抑制することで破骨細胞数を減少させる		
学位申請論文（全文）のインターネットの利用による公表（○をお願いします） 可 ・ <input checked="" type="radio"/> 不可 不可の理由（学位規則第9条第2項に規定する「やむを得ない事由」） 学位申請論文の図が学術雑誌（Journal of Oral Science（印刷中））に掲載予定 であり、著作権による制約を受けている為			

歯学研究科委員会提出用

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	森 寛典
論文審査 委員氏名	主査		印
論文題名	副査		印 印
			印
論文題名	ラットの歯髄由来の培養上清は破骨細胞前駆細胞の接着を抑制することで破骨細胞数を減少させる		

大学院委員会提出用

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	森 寛典
論文審査 委員氏名	主査 後藤 滋巳 副査 戸苅 彰史 三谷 章雄 宮澤 健		
論文題名	ラットの歯髄由来の培養上清は破骨細胞前駆細胞の接着を抑制することで破骨細胞数を減少させる		

インターネットの利用による公表用

歯髄は周囲のエナメル質、象牙質、セメント質により口腔内細菌からの感染を防御し、歯の硬組織がう蝕により破壊されると、細菌は歯髄に侵入し炎症を引き起こす。炎症状態が持続した結果、歯髄が失活し根尖部に骨吸収が起こることがある。

歯髄は細胞外マトリックス、神経、毛細血管、種々の細胞で構成されており、構成する細胞の多くは線維芽細胞であるが、マクロファージ、樹状細胞、リンパ球などの免疫細胞も存在している。マクロファージは RANKL 及び M-CSF の存在下で成熟した多核の破骨細胞に分化するが、歯髄における破骨細胞の形成動態についてはほとんど知られていない。そこで本研究では、ラット歯髄由来の培養上清（以下 CM）が破骨細胞形成に及ぼす影響を検討している。

本研究では、破骨細胞形成における CM の影響を評価するため、破骨細胞前駆細胞を RANKL 存在下で CM の添加あるいは非添加で培養した後、TRAP 染色を行い、多核破骨細胞数を測定している。また、破骨細胞前駆細胞における CM の効果を評価するため、破骨細胞前駆細胞を RANKL 非存在下で CM の添加あるいは非添加で培養した後、接着細胞及び浮遊細胞の数を測定している。また、CM による破骨細胞前駆細胞の接着能への影響を、定量的リアルタイム PCR を用いて、細胞接着に関与する遺伝子である FAK と paxillin の mRNA の発現レベルで評価している。

先ず、RANKL 群、RANKL 及び歯髄由来の CM 群について TRAP 染色の解析では、RANKL 群と比較して RANKL 及び歯髄由来の CM 群において、TRAP 陽性の多核破骨細胞数の有意な減少を認めている。また、この阻害効果が歯髄特異的なものであるかを明らかにするため、ラット尾部由来の培養上清を作成し、同様の実験を行ったところ、RANKL 群と比較して RANKL 及び尾部由来の CM 群においては、その細胞数に減少を認めていない。続いて、歯髄由来の CM の濃度を変化させ、同様の実験を行い、TRAP 陽性の多核破骨細胞数が歯髄由来の CM 濃度依存的に減少していることを認めた。

次に、歯髄由来の CM が破骨細胞数を抑制した原因を明らかにするため、破骨細胞分化関連遺伝子である NFATc1 及び TRAP の mRNA の発現レベルを測定し、破骨細胞分化への影響を検討している。その結果、歯髄由来の CM が RANKL で誘導された NFATc1 及び TRAP の mRNA レベルに影響しないことを認めている。このように、歯髄由来の CM が破骨細胞への分化に影響を及ぼさなかったため、次に、CM による破骨細胞前駆細胞への影響を検討した。まず、初めに細胞形態への影響を検討した結果、歯髄由来の CM により突起を持った細胞の減少を認めている。次に、接着細胞と浮遊細胞数を測定した結果、生細胞では歯髄由来の CM によって浮遊細胞数の増加、接着細胞数の減少を認めている。一方で、死細胞では接着細胞

胞、浮遊細胞ともに影響を認めていない。

これらの知見より、歯髄由来の CM が破骨細胞前駆細胞の接着能を低下させる可能性が示されたので、細胞接着に関与することが知られている FAK、paxillin の発現の変化を検討した。その結果、歯髄由来の CM により、FAK と paxillin の遺伝子発現が抑制されることを見出した。FAK は、様々な細胞においてその接着、増殖及び細胞骨格の再編成に関与することが知られており、paxillin もまた、細胞移動、接着、伸展を調節することが知られている。この様な、マクロファージにおいてアクチン再編成の制御、その細胞の伸展促進などの報告に基づき、歯髄由来の CM による破骨細胞前駆細胞における FAK 及び paxillin の発現量の低下が細胞接着の減弱を引き起こすことを示唆している。しかし、FAK 及び paxillin の減少や細胞接着の抑制に関与する CM 中の特定の分子を同定するために、今後さらなる解析が必要であると述べている。

以上、本研究により歯髄由来の CM が、TRAP 陽性の多核破骨細胞数を減少させることを認め、その CM による破骨細胞数の減少が、破骨細胞前駆細胞の接着能の低下によってもたらされていることを示した。将来的には抜歯した歯髄由来の CM を全身投与することにより、骨粗鬆症などの治療薬に応用できる可能性を提示しており、今後の歯科矯正学、歯科薬理学及び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

(論文審査の要旨)

No. 4

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

位授与に値するものと判定した。