HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Osteoblastic function is relatively activated in c-src deficient adult mice but not in c-fos deficient mice [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	虎谷, 彌
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第11719号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/59162
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Hisashi_Toraya_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（歯学）　氏名　　虎谷　彌

審査担当者　主査　教授　網塚憲生
副査　教授　鈴木邦明
副査　教授　土門卓文

学位論文題名

Osteoblastic function is relatively activated in *c-src* deficient adult mice
but not in *c-fos* deficient mice
（骨芽細胞の機能は、*c-fos* 遺伝子欠損マウスではなく *c-src* 遺伝子欠損マウスで
活性化される）

審査は、主査、副査が一堂に会し、論文提出者が論文内容の要旨を説明しながら、その内容について審査担当者が口頭試問を行った。以下に論文内容と審査の要旨を述べる。

骨組織では、古い骨が絶えず新しい骨へと置き換わるといった骨改造、すなわち、骨リモデリングが行われている。健常人における骨リモデリングでは、破骨細胞の骨吸収と引き続き起こる骨芽細胞の骨形成の間にバランスが取れており、それは、破骨細胞と骨芽細胞の細胞学的カップリングに依存すると考えられる。破骨細胞と骨芽細胞のカップリングの機序として、破骨細胞の骨吸収によって骨基質から放出されたカップリング因子が周囲の骨芽細胞を活性化する説（Hayden 1995、Erlebacher 1998）、あるいは、破骨細胞の膜に組み込まれたカップリング因子が骨芽細胞に対して作用する説などが提唱されてきたが、その詳細は未だに明らかにされていない。特に、後者の場合は、破骨細胞が骨吸収を行っていなくとも、骨芽細胞へのカップリングが成立することになる。そこで、本研究では、破骨細胞の存在または骨吸収作用のどちらが骨芽細胞へのカップリングに重要かを明らかにする目的で、破骨細胞が形成されない *c-fos* 遺伝子欠損(*c-fos*$^{-/-}$)マウス、ならびに、破骨細胞は存在するが波状縁が形成されず骨吸収が起こらない *c-src* 遺伝子欠損(*c-src*$^{-/-}$)マウスの大腿骨を組織化学的・微細構造学的に解析した。

c-fos$^{-/-}$マウスと *c-src*$^{-/-}$マウスの大腿骨は、野生型マウスとは異なり、骨髄腔の領域が多数の骨梁で満たされた骨硬化症の組織像を示した。*c-fos*$^{-/-}$マウスには、TRAPase 陽性破骨細胞が存在せず、弱い ALPase 陽性反応を示す若干数の骨芽細胞しか観察されなかった。一方、*c-src*$^{-/-}$マウスには、多数の TRAPase 陽性破骨細胞が観察されたが、それらは波状縁や明帯を有せず、また、石灰化基質の取り込みを示さなかった。従って、*c-src*$^{-/-}$マウスの破骨細胞は骨吸収を行わないことが強

く示唆された。一方、*c-src*$^{-/-}$マウスの骨基質表面には、多数のALPase強陽性を示す活性型骨芽細胞が局在した。*c-src*$^{-/-}$マウスでは、TRAPase陽性かつオステオポンチン陽性セメントラインが骨表面と平行に層を形成していたことから、*c-src*$^{-/-}$マウスの破骨細胞は骨吸収を営むことができなくとも、TRAPase やオステオポンチンなどを分泌しながら骨基質表面を移動することが考えられた。また、セメントラインが層状に形成されていたことから、破骨細胞が通り過ぎた部位に活性型骨芽細胞が骨基質を添加することが繰り返された可能性が強く示唆された。そこで、*c-src*$^{-/-}$マウスを透過型電子顕微鏡観察すると、破骨細胞の隣には活性型骨芽細胞が局在し、それら骨芽細胞直下には、石灰化球を含む類骨層が観察された。さらに、破骨細胞と骨芽細胞とは互いに細胞突起を介した細胞間接触を行っている像も認められた。そこで、カップリング因子の候補の一つであるEphB4/ephrin B2を検索すると、骨芽細胞はEphB4を、また、破骨細胞はephrinB2陽性反応を示した。

以上のことから、骨リモデリングの場では、破骨細胞の骨吸収によって骨基質内から放出される物質が骨芽細胞に作用するのではなく、破骨細胞と骨芽細胞の細胞間接触が骨芽細胞の活性化に重要であると推測された。つまり、骨芽細胞と破骨細胞とのカップリングには破骨細胞の骨吸収作用ではなく、存在そのものが重要であると考えられた。

上記の論文内容及び関連事項について、以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1. C-fosおよびc-srcを介した転写制御およびシグナル伝達について
2. C-fos-/-マウスとc-src-/-マウスにおける軟骨内骨化について
3. C-src-/-マウスにおけるリモデリングとミニモデリングについて
4. オステオポンチンの機能について
5. 波状縁およびアクチンリングの形成に関与する諸因子について
6. 破骨細胞の微細構造について
7. EphB4/ephrinB2の作用メカニズムについて
8. モデリングとリモデリング部位の違いについて

これらの質問に対して、学位申請者から明快な説明と回答が得られたとともに、今後の研究に対する展望が示された。

学位申請者は、破骨細胞から骨芽細胞系細胞へのカップリング現象を形態学的に解析し、その作用メカニズムが骨吸収を介した機序による可能性が低いことを遺伝子改変マウスを用いて、微細構造学的・組織化学的に解明したことから、その内容が高く評価された。よって学位申請者は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。