HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Chronological immunolocalization of sclerostin and FGF23 in the mouse metaphyseal trabecular and cortical bone [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	櫻井, 敦中
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第12599号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/65579
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	Atsunaka_Sakurai_review.pdf (審査の要旨)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（歯学）　　氏　名　櫻　井　敦　中

主査　教授　佐　野　英　彦
審査担当者　副査　教授　網　塚　憲　生
副査　教授　土　門　卓　文
副査　助教　長谷川　智　香

学　位　論　文　題　名
Chronological immunolocalization of sclerostin and FGF23 in the mouse metaphyseal trabecular and cortical bone
（マウス骨幹端骨梁および皮質骨におけるスクレロスチンとFGF23の経時的局在変化）

審査は，はじめに申請者が提出論文の概要を説明し，その後，審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。

骨基質に埋め込まれた骨細胞は，骨芽細胞の抑制因子であるsclerostinや腎臓のFGFR1c/αklotho複合体を介して血中リン濃度を調節するFGF23を産生する。しかし，個体成長の過程において，常に同一の細胞系がこれら因子を産生するのか未だ明らかにされていない。そこで，学位研究として，マウスの胎生期，新生期，授乳期，成獣期におけるsclerostinおよびFGF23陽性細胞の骨における局在変化を組織化学的に検索した。

胎生18日齢，生後1日齢，1，2，4，8，20週齢のC57BL/6J雄性マウスをアルデヒド固定し，大腿骨・脛骨をパラフィンに包埋後に sclerostinおよびFGF23免疫染色を行った。sclerostinおよびFGF23陽性細胞数の計測部位としては，マウス大腿骨骨幹端の一次骨梁領域（成長板側4分の１）と二次骨梁領域（骨梁端側4分の１），さらに一次骨梁と同じ高さの皮質骨領域とした。また，一部の大腿骨および腎臓からtotal RNAを抽出し，RT-PCR法にて*Fgf23*, *Fgfr1c*, *αKlotho*の遺伝子発現を解析した。

マウス大腿骨骨幹端の一次骨梁領域については，胎生18日齢から生後2週齢までsclerostin陽性を示す細胞は観察されなかった。しかし，生後4週齢以降では，少数のsclerostin陽性骨細胞が局在するようになり，その後，週齢と共にその数が増加する傾向が認められた。一方，二次骨梁領域においては， sclerostin弱陽性を示す骨細胞が生後1日齢で認められはじめ，その後，週齢と共に数が増加した。FGF23陽性細胞について一次骨梁と皮質骨領域を検索すると，胎生18日齢から1週齢では，骨芽細胞に弱いFGF23陽性反応が観察されたが，骨細胞にはほとんど認められなかった。しかし，生後2週齢（授乳期）では，骨芽細胞だけでなく骨細胞もFGF23陽性反応を示すよう

になり，離乳後の生後4週齢から成獣期にかけては，骨芽細胞ではなく骨細胞がFGF23強陽性反応を示した。大腿骨・脛骨を用いたRT-PCR法を行うと，*Fgf23*遺伝子発現は，胎生期および生後1日齢において僅かにしか認められなかったが，生後1週齢以降で経時的に増加した。一方，*Fgfr1c*と*αKlotho*遺伝子は胎生期および生後1日齢に高い発現を示したが，生後2週齢以降では経時的に低下していった。なお、腎臓では，*Fgfr1c*と*αKlotho*遺伝子は全時点においてほぼ同程度の発現を示した。

以上より，マウス大腿骨・骨幹端では，骨の成長に伴いsclerostin陽性骨細胞の数が増加すること，また，一次骨梁よりも二次骨梁において，骨細胞は早期からsclerostinを発現することが推測された。また，胎生期から授乳期マウスの骨組織では，骨芽細胞が主にFGF23を産生するが，離乳期以降には，次第に，骨細胞が主たるFGF23産生細胞へと変化する可能性，さらに，*Fgf23*発現量も増加する可能性が推察された。

上記論文内容およ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）sclerostin陽性骨細胞およびFGF23陽性細胞数の組織学的計測方法
２）骨芽細胞から骨細胞への分化における細胞形態の変化
３）骨細胞ネットワーク構造と骨梁構築との関係
４）胎生期・新生期の骨において*Fgfr1c*と*aKlotho*の遺伝子発現が高い理由
５）骨組織におけるFGF23の局所作用の可能性とそのメカニズム
６）骨細胞の成熟過程とsclerostinおよびFGF23産生との関連性
７）軟骨基質または骨基質がsclerostin発現制御に及ぼす可能性
８）胎生期・新生期に骨芽細胞から産生されるFGF23の役割
９）sclerostinとFGF23が石灰化組織に与える影響

本研究の結果は，歯科領域に関連する骨組織の発生・成長における重要な基礎科学的情報を提供しており，学術的にも高く評価されると考えられた。加えて，上記の質疑応答から，申請者は本研究内容を中心とした専門分野はもとより，関連分野について十分な理解と知識を有していることが確認された。

以上のことから，審査担当者全員は学位申請者が博士（歯学）の学位を授与するに値するものと認めた。