



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Histochemical examination on bone tissue of ovariectomized (OVX) -leptin receptor mutated db/db mice [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	田中, 祐介
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11270号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56307
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Tanaka_review.pdf, 審査の要旨



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 田 中 祐 介

審査担当者 主査 教授 鄭 漢忠
副査 教授 網塚 憲生
副査 教授 土門 卓文

学 位 論 文 題 名

Histochemical examination on bone tissue of ovariectomized (OVX) -leptin receptor mutated *db/db* mice

（卵巣摘出（OVX）レプチン受容体遺伝子変異 *db/db* マウスの 骨組織における組織化学的解析）

審査は、上記担当者による申請者に対する提出論文と関連事項についての口頭試問により執り行われた。審査を行った論文の概要は以下の通りである。

【論文要旨】

申請者はレプチン非作用環境でエストロゲン欠乏が生じた場合に、骨組織にどのような異常が生じるか明らかにするため、レプチン受容体変異を有する *db/db* マウスに卵巣摘出：(OVX)を行い、骨の組織化学的解析を行った。

生後 12 週齢雌性 *db/db* マウスおよび野生型(WT)マウスを WT 群、WT-OVX 群、*db/db* 群、*db/db*-OVX 群の 4 群に分けた。8 週後に大腿骨および腔骨を通法にてアルデヒド固定し、ALP, TRAP, sclerostin の組織化学、微細構造観察、ならびに骨形態計測を行った。また、レプチン受容体(Lep-R), ALP, ER・と PPAR・2 の発現を RT-PCR にて解析した。

db/db 群、WT 群に比べて BV/TV, Tb.Th, Tb. N, Tb. Sp,脂肪組織量で有意差 を認めたが、一方、OVX を行っても有意な変化は認めなかった。Lep-R は破骨細胞ではなく骨芽細胞系細胞に局在し、Lep-R と ERα の発現は 4 群ともに変わらなかった。また WT-OVX 群では骨芽細胞および破骨細胞数の減少を観察したが、*db/db* 群で既に骨芽細胞が減少しており、*db/db*-OVX 群では有意な変化を示さなかった。透過型電子顕微鏡観察では、WT 群の骨芽細胞は粗面小胞体などの基質合成に関わる細胞内小器官が発達した微細構造を示したが、*db/db* 群の骨芽細胞は扁平になり細胞突起を伸ばす傾向を示すこと、さらに細胞質には多量のグリコーゲン顆粒や脂肪滴を含有することが認められた。また、*db/db* 群の骨細胞は委縮化し、明らかな sclerostin の陽性反応を示さなかった。RT-PCR では、leptin と PPAR・2 は *db/db* 群と *db/db*-OVX 群で発現が亢

進していたが、ALP は WT 群以外 の 3 群で低下していた。

db/db 群では骨芽細胞の機能が低下しているため、そこに OVX (エストロゲン 欠乏) を行っても、著しい骨梁の減少を誘導することができなかったと推察された。特に、*leptin* と PPAR・2 は *db/db* 群と *db/db*-OVX 群で発現が亢進していたことや、骨芽細胞に多量のグリコーゲン顆粒や脂肪滴が観察されたことから、レプチンシグナルが遮断された状態では、骨芽細胞の分化そのものが抑制されていることが推察された。以上、レプチン非作用環境では、骨芽細胞の活性化状態が低く、OVX の効果が誘導されにくい状態にあると考えられた。

【審査の内容】

論文審査にあたっては、申請者による学位論文要旨についての説明後、担当者により研究内容および関連事項についての質問を行った。主な質問事項は、1) レプチン受容体変異を有する *db/db* マウスに卵巣摘出 (OVX) という研究計画は 臨床においてどのようなことを想定して行っているのか？ 2) *db/db* 群では破骨細胞数は増加して、骨芽細胞は減っているということをどう説明できるのか？カップリング理論から考えても違和感があるが？ 3) *db/db* 群と OVX 群で の RANKL の違いは検討したか？ 4) HE 染色でみられる扁平な形態の破骨細胞 の性質についても検討を行っているか？実際に骨を吸収しているのか？生理的 な意義は？5)標本から骨梁などの厚みを測定した結果、*db/db* 群に OVX しても有意な変化がみられないということをどのように説明するのか？また、このことを臨床的にはどのように解釈するのか？ 6)一般的に骨の強度はどのように測定するのか？本研究においては骨質の評価は行っているのか？などであった。これらの質問に対しては申請者から適切かつ明快な回答および説明が得られ、研究の立案と遂行ならびに結果の収集とその評価について、申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究結果はレプチンシグナルが骨芽細胞および脂肪細胞分化に関与しており、レプチン非作用下では、骨代謝におけるエストロゲン欠乏の効果が現われにくいことを示唆するものとして意義深いものであることが高く評価された。申請者は、関連分野にも幅広い学識を 有し発展的研究にも意欲的であり、今後の研究についての将来性も期待される。 本研究業績は糖尿病患者ならびに閉経後の患者の骨粗しょう症発生のメカニズムの解明にも寄与すること大であり、博士（歯学）の学位に値するものと認められた。