



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	圧縮力は培養後期における破骨細胞の分化・融合を抑制する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	宮上, 雄希
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12147号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62047
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuki_Miyakami_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 宮上 雄希

主査 教授 飯 田 順 一 郎
審 査 担 当 者 副査 教授 鈴 木 邦 明
 副査 教授 土 門 卓 文
 副査 准教授 吉 村 善 隆

学 位 論 文 題 名

圧縮力は培養後期における破骨細胞の分化・融合を抑制する

審査は主査，副査全員が一同に会して口頭で行った．はじめに申請者に対して本論文の概要の説明を求めたところ以下の内容について論述した．

歯周組織には線維芽細胞，骨芽細胞，破骨細胞などさまざまな細胞が存在しており，これらの矯正力など機械的刺激に対する反応が歯の移動に関与している．歯周組織の細胞に機械的刺激を加えた際の影響についてこれまでに多くの報告があるが，破骨細胞に圧縮力を加えた後，長期的に培養した場合の破骨細胞の動態については未だ報告がない．本研究では破骨細胞に圧縮力を加えた後，長期的に培養した場合における，圧縮力が分化誘導系に与える影響を調査することを目的とした．

最初に RANKL 添加培養液を用いて RAW264.7 細胞を 7 日間培養し，総破骨細胞数および核数別の破骨細胞数の推移を観察した．破骨細胞は培養 3 日目以降に認められ培養 6 日目までは増加したが，培養 6 日目から 7 日目までの間に減少した．また，8 核以上の巨大破骨細胞は培養 4 日目以降に認められ培養 6 日目までは増加したが，培養 6 日目から 7 日目までの間に減少した．この減少は破骨細胞の寿命により細胞死が生じたためだと考えられる．

次に圧縮力が破骨細胞の分化誘導過程に与える影響を調査した．破骨細胞の寿命の影響を排除し，破骨細胞の動態を長期的に観察するため，培養 3 日目に破骨細胞に圧縮力を加えて 24，48，72 時間培養を行った．圧縮力を加えず培養したものを対照群，圧縮力を 24 時間加えた後それを解放して培養したものを圧縮力解放群，圧縮力を加えたまま培養したものを圧縮群とし，これらの破骨細胞数を比較した．培養 4 日目の時点において，破骨細胞数は圧縮群では対照群と比較して有意に増加したことから，24 時間の圧縮力は破骨細胞の分化・融合を促進することが示唆された．培養 5 日目の時点における破骨細胞数は圧縮群，圧縮力解放群では対照群と比較して有意に増加した．一方，圧

縮群，圧縮力解放群の間に有意差は認められなかったことから，24 時間以上圧縮力を加えても破骨細胞の分化・融合が促進しない可能性が示唆された．培養 6 日目の時点における破骨細胞数は圧縮群，圧縮力解放群では対照群と比較して有意に減少した．また破骨細胞数の推移に着目すると，培養 5 日目から 6 日目の間において破骨細胞数は対照群では増加したが，圧縮力解放群，圧縮群では減少した．この結果より，圧縮力は培養後期における破骨細胞の分化・融合を抑制する可能性が示唆された．

圧縮力が破骨細胞関連遺伝子の発現に与える影響について調査するために，破骨細胞のマスター転写因子である NFATc1，マーカー遺伝子である RANK，TRAP，融合因子である DC-STAMP，OC-STAMP について培養 3 日目から 24，48 時間後における対照群と圧縮群の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法にて定量した．培養 4 日目におけるこれらの mRNA の発現量を対照群と圧縮群とで比較したが，有意な差が認められなかった．培養 5 日目において圧縮群では対照群と比較して，これらの mRNA の発現が有意に抑制されていた．これらの結果から圧縮力は培養後期において破骨細胞関連遺伝子の発現を抑制することが示唆された．

以上の結果より，圧縮力は破骨細胞の分化・融合を促進するが，培養後期においては破骨細胞関連遺伝子の発現を抑制することで分化・融合を抑制することが示唆された．

引き続き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) 培地交換の時期等の実験の計画について
- (2) 細胞に対する圧縮力の加え方について
- (3) mRNA の発現が培養後期に減少する理由について
- (4) 矯正力との関係について
- (5) 今後の研究の展開について

本研究は，矯正力が加わった歯根膜において破骨細胞が誘導される現象に関して検討した研究である．これまでの研究では破骨細胞前駆細胞に圧縮力が加えられた際には，破骨細胞への分化・誘導が促進されると報告されているが，その観察は短期的なものであった．そこで本研究では長期的な培養による破骨細胞への分化・誘導に対する圧縮力の影響に関して観察を試み，破骨細胞前駆細胞に圧縮力が加わると，一端は破骨細胞への分化・誘導が促進されるが，その後は逆に分化・誘導が抑制されていく事を明らかにした．最適な矯正力を考える上で重要な情報を得ており，歯科医学全体の発展に貢献する重要な基礎的情報を提供した成果であると，高く評価できる．加えて，質疑応答から，申請者は本研究の内容を中心とした専門分野について十分な理解と学識を有していることを認めた．以上から，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．