



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ultrastructural examination on bone matrix surrounding osteocytes in PTH-administered mice [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	本郷, 裕美
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第12157号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/62176
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiromi_Hongo_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 本郷 裕美

主査 教授 網塚 憲生
審査担当者 副査 教授 田村 正人
副査 教授 土門 卓文

学 位 論 文 題 名

Ultrastructural examination on bone matrix surrounding osteocytes in PTH-administered mice

(副甲状腺ホルモン投与によって誘導される骨細胞周囲の骨基質の微細構造学的変化について)

審査は、審査担当者全員の出席の下、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われた。内容を以下に記す。

骨細胞は、骨芽細胞が自ら産生した骨基質中に埋め込まれた細胞であり、骨小腔という空間に存在している。そして細胞突起を伸ばし、骨基質中に骨細胞・骨細管系を形成している。骨細胞・骨細管系の幾何学的配列は部位によってことなり、骨幹端の幼弱な骨梁よりも成熟骨である皮質骨の方が規則的な配列を示すこと、また、そのような規則的な配列を示す骨細胞・骨細管系はより効率的に機能することが論じられている。さて、1960 年代に Bélanger によって、副甲状腺ホルモン(PTH)投与または低カルシウム(Ca)食の給餌によって骨細胞が骨小腔周囲の骨基質を溶解する現象、すなわち、骨細胞性骨溶解が提唱された。しかし、その詳しい機序に関しては未だ明らかにされておらず、本研究ではこの現象の可能性を探るために皮質骨と骨梁の骨細胞およびその周囲の骨基質の変化について微細構造学的および組織化学的に解析した。

生後 11 週齢の雄性 ICR 系野生型マウスおよび破骨細胞が存在しない receptor activator of NF- κ B ligand 遺伝子欠損 (*Rankl*^{-/-}) マウスにヒト PTH(1-34)を 80 μ g/kg, 160 μ g/kg, 2mg/kg の濃度で外頸静脈から投与した。マウスの腎動静脈を結紮して血中 Ca 濃度を数時間ごとに測定するとともに、アルデヒド固定後、大腿骨および脛骨を摘出し、通法にて、パラフィン、エポキシ樹脂、MNA 樹脂および研磨切片を作成した。それらの切片において、骨細胞周囲の骨基質を原子間力顕微鏡(AFM)によるナノインデンテーション、透過型電子顕微鏡(TEM)観察、カルセイン標識による蛍光顕微鏡観察、共焦点レーザー顕微鏡観察、von Kossa 染色および ⁴⁴Ca 安定同位体を用いた同位体顕微鏡観察を行った。

腎動静脈を結紮すると、野生型マウスおよび *Rankl*^{-/-}マウスのコントロール(PTH 非投与)群および PTH 投与群ともに、血中 Ca 濃度が経時的に上昇し、1 時間後において PTH 投与群で Ca 濃度の有意な上昇が認められた。野生型マウスおよび *Rankl*^{-/-}マウスの組織解析を行うと、PTH 投与に

は、骨幹端の骨梁ではなく、規則的な骨細胞・骨細管系を示す皮質骨において拡大した骨小腔が若干数の集団を形成しているのが認められた。また、皮質骨切片を von Kossa 染色すると、骨細胞周囲に骨基質ミネラルが流出した von Kossa 染色陰性の領域が観察された。TEM 観察では、PTH 投与群の骨小腔壁は著しい凹凸を示し、拡大した骨小腔内部にはコラーゲン線維が分解されたとされる綿毛状の不定形構造物や断片的な石灰化基質が認められた。ナノインデンテーションにより骨小腔の形状と弾性係数を計測すると、PTH 投与 1 時間後で骨小腔周囲の弾性率が低下しはじめ、PTH 投与 9 時間後で、形状変化を示さない骨細胞周囲の骨基質でも弾性率の低下が認められた。さらに、PTH 投与後に、拡大した骨小腔壁にカルセイン標識および ^{44}Ca 安定同位体の沈着を認めたことから、骨細胞は骨小腔周囲の骨基質を溶解するだけでなく、その後、石灰化沈着を誘導すると推測された。

以上より、骨細胞は一過性に骨小腔周囲の骨基質溶解、ならびに、石灰化沈着を誘導する可能性が強く示唆された。

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。以下のその項目を記す。

- (1) 骨細胞・骨細管系の規則的配列が骨細胞の機能にどのような影響を及ぼすか
- (2) 骨細胞からの細胞突起が側枝を伸ばす現象と物質輸送・力学感知の関連性について
- (3) 骨梁および皮質骨の骨細胞における骨細胞性骨溶解の相違について
- (4) 透過型電子顕微鏡による未脱灰切片の作成法について
- (5) 野生型マウス、*Rankl*^{-/-}マウス、*c-fos*^{-/-}マウスや *op/op* マウスの血中 Ca 濃度とその調節
- (6) 酸やコラーゲン分解酵素が骨細胞から産生される機序について
- (7) 同位体顕微鏡で ^{44}Ca を検出する原理について
- (8) 骨細胞による再石灰化を誘導する細胞学的なメカニズム
- (9) 骨細胞におけるコラーゲン線維をはじめとした有機性基質の合成について

本研究の結果は、学術的にも高く評価されたと考えられた。加えて、上記の質疑応答から、申請者は本研究の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学識を有していることが確認された。

以上、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。