HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	間歇的な機械的刺激はRAW264.7細胞における破骨細胞分化を抑制する［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	加藤, 結香
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13038号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70426
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuka_Kato_review.pdf, 審査の要旨



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　加　藤　結　香

主査　特任教授 飯　田　順　一　郎
審査担当者　副査　特任教授 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

間歇的な機械的刺激はRAW264.7細胞における破骨細胞分化を抑制する

審査は，審査担当者全員が出席の下で行われた。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ，その後審査担当者が提出論文の内容および関連分野について口頭試問する形で行われた。はじめに申請者から本論文の概要として以下の内容について論述された。

骨改造においては機械的刺激が重要な役割を果たしていることが明らかとなっているが，破骨細胞の分化誘導系に対し機械的刺激を直接作用させた報告は我々の研究のみである。本研究では，可撤式矯正装置の間歇的な使用による組織変化を想定し，合計刺激時間を一定とした場合に，間歇的な機械的刺激の間隔差が破骨細胞の分化に対しどのような影響を与えるのか検索した。

まず，RAW264.7 細胞が破骨細胞へ分化する経時的変化を観察した。 RAW264.7 細胞は RANKL の刺激により破骨細胞に分化することが可能である。RANKL を添加した日を 1 日目とし，2 日目から 7 日目に，それぞれ破骨細胞をホルマリンで固定後，TRAP 染色した。その結果，3 日目から多核の破骨細胞が観察され，4 日目から 5 日目に急激に増加後，6 日目をピークに破骨細胞数は減少した。

次に，破骨細胞に対して間歇的な機械的刺激を与える場合の，刺激付与時間の間隔差による影響と，そのメカニズムを解析した。上村らの結果より，伸展率は 10 %とし，合計刺激時間を 24 時間として，それぞれ 12，6，4，3，2，1 時間毎に機械的刺激と無刺激とを繰り返し，間歇的な機械的刺激を与え，破骨細胞への影響を観察した。48 時間無刺激としたものを対照群とした。その結果，全ての実験群では破骨細胞数が有意に抑制された。また，1 時間毎の刺激付与群（1 時間群）と 12 時間毎の刺激付与群（12 時間群）を比較すると，1 時間群において総破骨細胞数は有意に抑制された。特に 2，3，4 核の破骨細胞数が有意に抑制された。

この間歇的な機械的刺激による少数核の破骨細胞の増加抑制の原因因子を探るために，TRAP，RANK，NAFTc1，DC-STAMP，OC-STAMP，CD47 および syncytin-A に注目した。培養 4 日目の 1 回目の持続的刺激（12 時間および 1 時間）除去後，15 分後，30 分後に RNA を回収し，realtimePCR を行った。 12 時間群と 1 時間群を比較すると，TRAP，RANK，NAFTc1 および syncytin-A では両群においての差は認められず，DC-STAMP，OC-STAMP および CD47 では，1 時間群で mRNA の発現は有意に抑制された。このことから，間歇的な機械的刺激は，単核の前破骨細胞同士および単核の前破骨細胞と 2〜5 核の少数核の破骨細胞との融合に関与している CD47 の発現抑制により，2〜4 核，特に 2 核の破骨細胞数を減少させたことが示唆された。一方，OC-STAMP の発現は抑制されたものの，syncytin-A の発現は抑制されていないため，多数核の破骨細胞同士の融合は抑制されておらず，5 核以上の破骨細胞数の有意な増加抑制が認められないことが示唆された。これらのことから，間歇的な機械的刺激は，CD47 の発現抑制に加えて，OC-STAMP，DC-STAMP の抑制を引き起こし，破骨細胞の分化・融合を抑制したことが示唆された。

以上より，破骨細胞はメカニカルストレスを感知し，Flexcell tension system による間歇的な機械的刺激の回数および時間が破骨細胞の分化・融合に影響を与えることが示された。

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）破骨細胞の核数と骨吸収能との関係
（２）破骨細胞が多核であることの理由について
（３）培養皿の底面と細胞の接着の状態について
（４）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で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の分化の過程で，細胞に牽引力が加えられた際には，破骨細胞への分化・誘導が抑制されることが報告されているが，矯正装置をどのように使用するのが，この破骨細胞の誘導の抑制に対して最も有効であるかについては明確でなかった。本研究結果から長時間持続的にけん引力を加えるよりも１時間の単位で頻度を多くした牽引力が加わる方が，破骨細胞の出現をより強く抑制することが明らかになった。

本研究成果は，最適な矯正力を考える上で重要な情報を得たものであり，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関連分野の幅広い知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。