



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Histological alteration of bone specific-blood vessels in murine long bones with intermittent PTH administration [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	趙, 申
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13877号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78645
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Zhao_Shen_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 趙 申

主査 教授 網塚 憲生
審査担当者 副査 教授 樋田 京子
副査 教授 飯村 忠浩

学 位 論 文 題 名

Histological alteration of bone specific-blood vessels in murine long bones with
intermittent PTH administration

（ PTH 間歇投与によるマウス長管骨における骨特異的血管の組織学的変化 ）

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。

副甲状腺ホルモン(PTH)の間歇投与は、前骨芽細胞の細胞増殖と骨芽細胞の骨形成を促進する。一方、骨組織では、Endomucin 陽性/CD31 陽性を示す骨特異的血管の存在が報告されており、Endomucin 陽性骨特異的血管が骨芽細胞を活性化させ、骨形成を促進する可能性が示唆されている。PTH 受容体は、血管内皮細胞やその周囲の細胞群にも発現が認められるが、PTH が骨特異的血管や血管周囲の細胞群に与える影響については、未だ明らかにされていない。そのことから、本研究では、PTH 間歇投与後の骨特異的血管の変化について、組織化学的に明らかにすることを目的とした。

本研究の動物モデルとして、生後 6 週齢雄性 C57BL/6J マウスに、溶媒または human PTH[1-34](20μg/kg/day)を 1 日 2 回の頻度で 2 週間にわたって腹腔内投与し、4%パラホルムアルデヒド溶液にて浸漬固定を行った。大腿骨・脛骨を摘出し、EDTA 脱灰後、パラフィンあるいは Epoxy 樹脂包埋を行い、パラフィン切片および樹脂切片を作成した。パラフィン切片は Endomucin, αSMA, EphB4, ephrinB2, Alkaline phosphatase (ALP)免疫組織化学に、樹脂切片は toluidine blue 染色に供した。また、一部の大腿骨・脛骨から total RNA を抽出し、RT-PCR 法にて、Endomucin, αsma, Ephb4, Ephrinb2, Alp の遺伝子発現を解析した。

その結果、PTH 投与群では大腿骨遠位骨幹端における Endomucin 陽性血管の数が増加しており、さらに、血管腔の最大径（長径）と平均径の拡大および面積

の増大が認められた。また、 α SMA 陽性、EphB4 陽性、ephrinB2 陽性を示す血管の数もコントロール群に比較して PTH 投与群でいずれも増加しており、*Endomucin*, *α Sma*, *Ephb4*, *Ephrinb2* 遺伝子の発現も上昇していた。

α SMA 免疫染色の結果から、PTH を間歇投与と、 α SMA 陽性血管平滑筋細胞が増加するのみならず、血管周囲の一部の細胞も α SMA 陽性反応を示すことが明らかとなった。血管周囲の α SMA 陽性細胞は、2種類の異なる組織学的特徴を有しており、1) ALP 陽性を示し骨表面に近接して存在するもの、2) ALP 陰性で長い細胞突起を伸ばした紡錘形の外形を示し、骨表面と平行にやや離れて局在するもの、に区別された。

以上の結果より、PTH 間歇投与は骨芽細胞のみならず骨特異的血管や血管周囲の細胞群にも影響を及ぼすものと推測された。

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) PTH 間歇投与により α SMA 陽性血管が増加することの生理学的あるいは薬理学的意義について
- (2) *Endomucin*, α SMA, EphB4, ephrinB2 陽性血管の計測方法について
- (3) PTH 間歇投与により、静脈系の EphB4 陽性毛細血管と動脈系の ephrinB2 陽性毛細血管の両者が増加する理由について
- (4) 骨の部位による *endomucin* 陽性血管の違いについて
- (5) PTH 間歇投与による血管新生誘導のメカニズムについて

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。