



Title	Histochemical assessment of the femora of Spontaneously Diabetic Torii-Leprfa (SDT-fa/fa) rats that mimic type II diabetes [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	姚, 齊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第16442号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/94869
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Qi_Yao_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 姚 齊

学 位 論 文 題 名

Histochemical assessment of the femora of Spontaneously Diabetic Torii-*Lepr^{fa}* (SDT-*fa/fa*) rats that mimic type II diabetes

(II型糖尿病モデル Spontaneously Diabetic Torii-*Lepr^{fa}* (SDT-*fa/fa*)ラット大腿骨の組織化学的解析)

キーワード（5つ）糖尿病，骨粗鬆症，SDT-*fa/fa*ラット，骨細胞，組織化学

II型糖尿病は、遺伝的素因によるインスリン分泌能の低下に、環境的素因としての生活習慣の悪化に伴うインスリン抵抗性が加わり高血糖となる疾患である。近年、糖尿病と骨代謝異常の関連、特に糖尿病性骨粗鬆症について注目が集まっている。一般的に、骨粗鬆症では骨密度（bone mineral density: BMD）の低下、および、骨折リスクが上昇する。ところが、糖尿病性骨粗鬆症では、BMD が正常値または高値を示すにもかかわらず易骨折性を示し、その原因として骨質の低下や機械的強度の劣化の可能性が報告されている。しかし、これら骨病態に対する組織学的な解析は十分とはいえない。そこで、本研究では、糖尿病性骨粗鬆症の骨病態を明らかにする目的で、II型糖尿病発症モデルである Spontaneously Diabetic Torii- *Lepr^{fa}* (SDT-*fa/fa*)ラットの大腿骨を組織化学的に解析した。

本研究で用いた SDT-*fa/fa* ラットは、Zucker fatty ラットの肥満遺伝子であるレプチン受容体変異（*Lepr^{fa}*）を SDT ラットの遺伝的背景に導入することで作製されたII型糖尿病モデルであり、若齢期から糖尿病性網膜症、腎症、神経障害、骨粗鬆症といった糖尿病合併症を示す。生後 30 週齢雄性 SDT-*fa/fa* ラット、および、対照群である同週齢の Sprague-Dawley (SD) ラットに、3 種混合麻酔下にて心臓から採血した後、パラホルムアルデヒド溶液による灌流固定を行い、左右の大腿骨を摘出した。右大腿骨は、マイクロ CT 撮影、ならびに、BMD, bone volume/tissue volume (BV/TV)計測を行った後、未脱灰エポキシ樹脂切片を作製し、石灰化を可視化する von Kossa 染色を施した。一方、左大腿骨は、10%EDTA 溶液で脱灰した後、矢状断パラフィン切片を作成し、H-E 染色、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (tartrate-resistant acid phosphatase: TRAP) 染色, cathepsin K, tissue-nonspecific alkaline phosphatase: ALP, PHOSPHO1, DMP1, MEPE, sclerostin, osteocalcin 免疫染色を行った。また、遠位成長板軟骨から 200 μ m 骨幹側の 1000 $\times$ 2000 μ m の領域において、TRAP 陽性破骨細胞数、ALP 陽性骨芽細胞系細胞領域、PHOSPHO1 陽性骨芽細胞領域、osteocalcin 陽性骨細胞の割合を計測し、Student's t-test による統計解析を実施した。

血液検査の結果、SDT-*fa/fa* ラットでは、SD ラットと比較して、血糖値および HbA1c が

上昇するとともに、総コレステロール、トリグリセリド、HDL-コレステロール値の上昇が見られ、高脂血症を伴う II 型糖尿病を呈していた。これらを踏まえて、大腿骨遠位部のマイクロ CT 像および H-E 染色像を観察すると、SDT-*fa/fa* ラットでは、骨幹端部の骨梁が減少しており骨梁数や骨梁幅が低下していた。さらに SDT-*fa/fa* ラットでは海綿骨 BMD および海綿骨 BV/TV が SD ラットに比べて有意に低下していた。

破骨細胞の分布を、TRAP 染色および基質分解酵素である cathepsin K 免疫染色で検索したところ、SD ラットと SDT-*fa/fa* ラットともに、骨軟骨移行部の骨梁表面に多数の TRAP 陽性破骨細胞および cathepsin K 陽性破骨細胞が局在しており、骨表面当たりの TRAP 陽性破骨細胞数に有意差は認められなかった。一方、骨芽細胞系細胞の分布を ALP 免疫染色で、また、成熟骨芽細胞の局在を PHOSPHO1 免疫染色で検索したところ、両ラットともに、骨梁表面に ALP 陽性骨芽細胞系細胞と PHOSPHO1 陽性成熟骨芽細胞が観察された。また、von Kossa 染色による骨基質石灰化についても大きな違いは認められなかった。しかし、骨表面に対する ALP 陽性骨芽細胞系細胞領域と PHOSPHO1 陽性骨芽細胞領域の統計解析を行うと、SDT-*fa/fa* ラットでは、これらの値が有意に減少していた。このことから、SDT-*fa/fa* ラットでは、破骨細胞による骨吸収ではなく、骨芽細胞による骨形成が低下することで、骨量が減少している可能性が推測された。

さらに、骨細胞ネットワークの検索として鍍銀染色を行うと、SD ラットと SDT-*fa/fa* ラットはともに規則的な骨細胞・骨細管系を示していた。ところが、骨細胞由来の骨基質蛋白である DMP1 および MEPE は、SD ラットで骨小腔と骨細管に局在するのに対し、SDT-*fa/fa* ラットでは骨小腔のみに限局しており、骨細管にはほとんど認められなかった。また、骨基質石灰化やインスリン分泌に寄与する osteocalcin は、SD ラットでは、主に骨表面やセメントラインに観察されるのに対し、SDT-*fa/fa* ラットでは骨小腔内に蓄積しており、osteocalcin 陽性骨細胞の割合が有意に上昇していた。さらに、骨芽細胞抑制に働く sclerostin 陽性反応は SDT-*fa/fa* ラットの骨細胞で著しく増加していた。

以上の結果から、SDT-*fa/fa* ラットの大腿骨では、骨幹端部の海綿骨量および BMD が低下すること、その原因として、破骨細胞の骨吸収亢進ではなく、骨芽細胞の骨形成低下が推測された。また、SDT-*fa/fa* ラットの骨細胞・骨細管系の幾何学構造には異常が認められないものの、骨細胞の sclerostin 産生が亢進しており、sclerostin を介した骨芽細胞抑制が生じている可能性、さらには、osteocalcin や DMP1, MEPE など骨基質蛋白の骨小腔への蓄積が骨細胞機能に影響を及ぼしている可能性が推測された。