



HOKKAIDO UNIVERSITY

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_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 姚 齊

審 査 担 当 者	主査	教授	網 塚 憲 生
	副査	教授	坂 口 究
	副査	教授	飯 村 忠 浩
	副査	教授	樋 田 京 子
	副査	准教授	長谷川 智香

学 位 論 文 題 名

Histochemical assessment of the femora of Spontaneously Diabetic Torii-*Lep^{fa}* (SDT-*fa/fa*) rats that mimic type II diabetes
(Ⅱ型糖尿病モデル Spontaneously Diabetic Torii- *Lep^{fa}* (SDT-*fa/fa*) ラット大腿骨の組織化学的解析)

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。

Ⅱ型糖尿病は、環境的素因としての生活習慣の悪化に伴うインスリン分泌低下または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。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 SDT-*fa/fa* ラット（レプチン受容体変異 *Lep^{rfa}*）の大腿骨を組織化学的に解析した。

生後 30 週齢雄性 SDT-*fa/fa* ラット、および同週齢の SD ラットに BMD と BV/TV 計測を行った後、エポキシ樹脂切片を用いて von Kossa 染色を行った。パラフィン切片を用いて、H-E 染色、TRAP 染色、cathepsin K, ALP, PHOSPHO1, DMP1, MEPE, sclerostin, osteocalcin 免疫染色を行った。また、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、統計解析を実施した。

血液検査の結果、SDT-*fa/fa* ラットでは、血糖値および HbA1c、総コレステロール、HDL コレステロールの上昇が見られ、高脂血症を伴うⅡ型糖尿病を呈していた。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* ラットでは海綿骨の骨密度 (BMD)、骨梁 (BV/TV)、骨梁数 (Tb.N)、骨梁幅 (Tb.Th) が SD ラットに比べて有意に低下していた。

破骨細胞の分布を観察すると、SD ラットと SDT-*fa/fa* ラットともに、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、SDT-*fa/fa* ラットでは、骨表面当たりの ALP 陽性骨芽細胞系細胞領域と PHOSPHO1 陽性成熟骨芽細胞領域が低下していた。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。従って、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。

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* ラットともに規則的な骨細胞・骨細管系を示していた。しかし、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。また、DMP1 および MEPE 免疫陽性反応は、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。骨基質石灰化やインスリン分泌に関与する 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。

以上の結果から、SDT-*fa/fa* ラットの大腿骨において、骨幹端部の海綿骨量が減少することは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おり、骨質 bone quality の劣化につながる可能性が推測された。

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。以下にその項目を記す。

- (1) 糖尿病状態における骨芽細胞の増殖・活性の低下のメカニズムについて
- (2) 骨芽細胞の成熟における ECM の役割について
- (3) SDT-*fa/fa* ラットの特徴とヒト糖尿病との異同について
- (4) SDT-*fa/fa* ラットの大腿骨と下顎骨における病態像の違いについて
- (5) 骨細胞ネットワークにおける AGE の蓄積と骨細胞機能について
- (6) 骨細胞由来蛋白の産生異常における骨質劣化の考察について
- (7) 糖尿病が骨組織の血管に及ぼす影響について

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。