

Title	Molecular and morphological analyses of the osteogenic activity of rat cultured periosteum cells in vivo and in vitro
Author(s)	宗宮, 英希
Journal	歯科学報, 110(4): 518-519
URL	http://hdl.handle.net/10130/2002
Right	

氏名(本籍)	宗 宮 英 希 (岐阜県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 1759 号(甲第 1034 号)
学位授与の日付	平成20年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Molecular and morphological analyses of the osteogenic activity of rat cultured periosteum cells <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i>
掲載雑誌名	Oral Medicine & Pathology 第14巻 19~28頁 2009年
論文審査委員	(主査) 柴原 孝彦教授 (副査) 山田 了教授 井上 孝教授 下野 正基教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

現在歯科分野では骨の欠損を早期に回復させるために、自家骨、自家組織、および人工物の移植が多く行われている。特に自家組織の移植では祖細胞や骨原生細胞を含む骨膜や骨髄の移植に興味が続いている。しかしながら、これら骨膜や骨髄の移植には採取にあたっての侵襲と採取量に限りがあることが問題となっている。そこで、近年では骨膜や骨髄に存在する骨形成細胞を培養し移植する研究が行われてきた。しかしながら、これらの研究は形態的観察にとどまるものが多く、分子生物学的に観察したものは少ない。今回我々は骨膜と骨髄の細胞を培養し、十分な細胞数を獲得した後に大腿骨内に自家移植した時の骨形成能を形態学的、免疫組織化学的ならびに、骨関連タンパクの発現を調べるため分子生物学的検索を行った。本実験の目的は、ラット大腿骨に自家移植した培養骨膜細胞の動態を形態学的、免疫組織化学的および分子生物学的に検索することである。

2. 研究方法

実験動物は、Sprague-Dawley 系雄ラットを132匹用いた。骨膜は頭蓋骨より、骨髄は大腿骨より採取した。実験には2継代目の培養骨膜細胞(CP)および培養骨髄細胞(CBM)を用いた。各培養細胞は3, 5, 7および14日目に細胞増殖率の計測および骨関連タンパク mRNA の発現について分子生物学的分析を行った。次いで非骨性組織内での骨形成能を調べるために CP および CBM を腹直筋内へ移植し形態学的に観察した。さらに培養細胞を大腿骨骨窩洞に自家移植し、移植後3, 5, 7および14日に形態学的、ならびに PEBP 2 α A を抗体とした免疫組織化学的検討と、培養細胞移植部の細胞の骨関連タンパク mRNA の発現を分析した。なお対照群として上顎門歯側歯肉より採取した培養線維芽細胞(CGF)を用いた。

3. 研究成績および考察

CP は3, 5および7日例においてCBMと、また7日例においてCGF群と比べて有意差をもって高い増殖率が観察された。またCPは、骨関連タンパク mRNA の発現が他群と比べ有意差をもって早期に高い値を示した。腹直筋内移植実験ではCPでは7日例ですでに異所性骨形成が確認されたが、CBMでは14日例でわずかに骨形成が認められるにすぎなかった。大腿骨骨窩洞内への自家移植実験群ではCPは他群より早期に PEBP 2 α A 陽性細胞が出現し、7日例ではすでに窩洞内で新生骨の形成が観察された。またCPは骨関連タン

パク mRNA 発現が他群と比べて早期に発現していた。骨髄は未分化な骨髄幹細胞や造血幹細胞など多くの細胞で構成されている。一方骨膜は低分化な骨原生細胞が多くを占めている。骨膜と骨髄を構成する細胞、および分化度の違いが増殖能、および分化能に影響していると考えられる。

4. 結 論

培養細胞にて CP は CBM より高い増殖能を持つ。また、早期に骨関連タンパクの mRNA が発現し、高い骨形成能を持つことが確認できた。また大腿骨骨窩洞内自家移植実験にて移植後も CP は高い骨形成能が維持できることがわかった。本実験の結果より CP は CBM より高い増殖能、早期の分化能をもつことから、移植片としての有用性が高いと考えられる。

論 文 審 査 の 要 旨

骨再生のための培養細胞の移植に関する実験は数多くなされてきた。しかし移植後の移植細胞の動態を分子生物学的に観察したという報告はほとんどない。本論文は、骨膜に含まれる骨原性細胞を培養した後に大腿骨窩洞内に自家移植を行い骨形成能の検索を行った。移植した細胞そのものが窩洞内で増殖し、骨形成細胞へ分化していることが確認され、また、培養骨膜細胞は高い増殖能を持ち、移植前と同様に移植後も高い骨形成能が持続されることが示唆された。これらの結果から培養骨膜細胞が高い増殖能、および骨形成能を持ち移植片として有用であることが示唆されたという内容のものである。

本審査委員会は、平成20年1月22日に行われ、まず宗宮英希大学院生から論文内容の説明がなされた。その後、各審査委員より次のような質問がなされた。1：頭蓋より骨膜を採取した理由について、2：骨窩洞を顎骨ではなく大腿骨に作製した理由について、3：自家移植後の周囲の組織の影響について、4：培養骨膜細胞の今後の臨床応用について、などの質疑がなされた。これらの質問に対して1：予備実験から当該骨膜が上下顎骨膜と類似した骨形成能を持っていることが確認されたため、2：移植細胞そのものの骨形成能を確認するために十分な大きさの窩洞が必要なためであるため、3：窩洞を含む大腿骨を遮蔽膜で一周覆っていることで周囲組織の侵入を防御している、4：嚢胞摘出後の骨欠損部の回復や顎裂部の骨再建への応用が期待できる、など概ね妥当な回答が得られた。その他、目的の明確化、論文の整理、用語の統一、付図およびその説明の補足、統計処理の方法など多くの修正すべき点が指摘され、訂正が行われた。その結果、本研究で得られた結果は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。