

Title	Osteogenic differences in cultured rat periosteal cells under hypoxic and normal conditions
Author(s)	市島, 丈裕
Journal	歯科学報, 112(4): 566-567
URL	http://hdl.handle.net/10130/2929
Right	

氏名(本籍)	いち しま たけ ひろ 市 島 丈 裕 (東京都)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1933号(甲第1179号)
学位授与の日付	平成24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	Osteogenic differences in cultured rat periosteal cells under hypoxic and normal conditions
掲載雑誌名	EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE 第3巻 165~170頁 2011年11月
論文審査委員	(主査) 山根 源之教授 (副査) 井上 孝教授 柴原 孝彦教授 下野 正基教授 東 俊文教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

現在骨再生治療が臨床応用されているなかで主たるものは骨髄がその多くを占めている。しかし骨髄は採取に複雑な作業を要する。骨髄に代わる材料として骨膜が注目されている。骨膜は骨髄と比較しても骨形成能が同等または上回るという報告がある。しかし骨膜は採取できる量に限りがある。量を増やす方法に培養があり、より骨形成能を高める方法として低酸素培養がある。現在まで歯髄、歯根膜などで低酸素培養することによって骨形成能が上昇したという報告がある。しかし骨膜において同様の報告は行われていない。本研究の目的はラット骨膜細胞を用いて通常培養及び低酸素培養下における骨形成能の比較に関しての分子生物学的検索である。

2. 研究方法

本研究では20匹の7週齢、SD系雄性ラットを用いた。ラットの頭頂骨骨膜より細胞の採取を行ない、通常培養群(20%O₂, 5%CO₂, and 75%N₂ at 37°C)と低酸素培養群(5%O₂, 5%CO₂, and 90%N₂ at 37°C)に分けて培養を行った。培養開始後1, 2, 3及び4日目に関する骨形成能及び低酸素培養における通常培養群との細胞動態の比較を細胞増殖, mRNAレベルでの評価としてHIF1α, VEGF, Runx2, ALP, BSP, OCN, Periostinを用いて、タンパク質レベルとしてHIF1α, VEGF, Glut1, BMP2, Runx2, ALP, BSP, OCN, Periostinを用いてそれぞれに関して評価した。

3. 研究成績および考察

mRNAレベルの評価において低酸素培養群の方が通常培養群よりもHIF1α, VEGF, Runx2, ALP, BSP, OCN, Periostinにおいて高い値を示した。タンパク質レベルにおける評価においてHIF1α, VEGF, BMP2, Runx2, ALP, BSPにおいて低酸素培養群は通常培養群よりも高い発現を示した。BMP2, Runx2, ALP, BSP, OCN, Periostinは骨形成能が上昇してきた際に発現してくるマーカーとして知られており、これらが通常培養群よりも低酸素培養群にて上昇してきた。

4. 結論

mRNAレベル, タンパク質レベルにおける評価において低酸素培養群は通常培養群よりも高い骨形成能を示した。これより骨膜細胞は低酸素培養することによって通常培養よりも高い骨形成能を得る事が示唆された。

論文審査の要旨

骨膜はこれまで骨髄と比較した際に同等またはそれ以上の骨形成能をもつといわれている。しかし現在顎顔面領域の骨再生の際には骨髄が主流となっている。骨膜が骨髄に劣る問題点として採取量があり、その問題を解決する方法として培養が挙げられる。更に現在まで他の組織での低酸素状態による培養を行う事で骨形成能が上昇するという報告が認められる。しかし骨膜に関して低酸素培養により骨形成能の検討は現在まで行われていない。

本論文はラット骨膜細胞を使用して、通常培養群と低酸素培養群、それぞれにおける骨形成能の比較検討を行った。細胞増殖に関しては通常培養群、低酸素培養群において有意差は認められなかったが、mRNAレベルの評価において低酸素培養群の方が通常培養群よりもHIF1 α 、VEGF、Runx2、ALP、BSP、OCN、Periostinにおいて高い値を示した。タンパク質レベルにおける評価においてHIF1 α 、VEGF、BMP2、Runx2、ALP、BSPにおいて低酸素培養群は通常培養群よりも高い発現を示した。BMP2、Runx2、ALP、BSP、OCN、Periostinは骨形成能が上昇してきた際に発現してくるマーカーとして知られており、これらが通常培養群よりも低酸素培養群にて上昇してきた。これらのことより低酸素培養により通常培養よりも骨形成能を上昇させる事が示唆された。

本審査委員会は、1) 低酸素状態の背景、2) 骨膜の採取部位における違い、3) Periostinと低酸素状態の関連性に関して討論を行ない、概ね妥当な回答が得られた。また、文章表現、図表の訂正の要望がなされ、検討のうえ、修正を行った。

以上より、本研究より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。