

論文審査の結果の要旨

氏名：柄澤 瑤子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：骨芽細胞の細胞外マトリックスタンパク代謝と破骨細胞分化の調節に及ぼす伸展力の影響

審査委員：（主査） 教授 鈴木直人

（副査） 教授 清水典佳

教授 高橋富久

教授 前野正夫

歯科矯正治療において、歯に加える矯正力が歯槽骨のリモデリングを引き起こすことが知られている。すなわち、圧迫側では骨吸収が、牽引側では骨形成がそれぞれ優位となり、歯の移動が引き起こされる。骨芽細胞は高いアルカリフォスファターゼ活性を有し、コラーゲン性および非コラーゲン性の細胞外マトリックス (ECM) タンパクを産生して、骨形成の中心的な役割を担っている。また、骨芽細胞は、破骨細胞性骨吸収にも関与することが知られている。骨芽細胞は、破骨細胞の分化を促進する receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) や macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) および RANKL の decoy 受容体である osteoprotegerin (OPG) を産生して、破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化と成熟を調節する。さらに、骨芽細胞はタンパク分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs) とその内因性阻害剤である tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) を産生して、破骨細胞が骨表層に吸着するプロセスで重要となる osteoid 層の ECM タンパク分解にも関与する。

矯正力を想定して、伸展力 (TF) を骨芽細胞に負荷したこれまでの *in vitro* 研究においては、適度な TF 負荷がアルカリフォスファターゼ活性と ECM タンパク発現を増加させる一方で、過度な TF 負荷は、骨芽細胞による石灰化物形成を抑制することが報告されている。しかし、TF 負荷が骨芽細胞によって産生される ECM タンパク分解酵素とその内因性阻害剤、および破骨細胞分化調節因子の発現に及ぼす影響を調べた研究は少なく、その詳細は不明である。そこで、本論文の著者は、骨芽細胞による osteoid 層中の ECM タンパク分解ならびに破骨細胞分化調節における TF 負荷の影響を、細胞および分子生物学的に明らかにするために本研究を企画した。

本研究では、骨芽細胞様細胞として MC3T3-E1 を用い、TF 負荷が MMPs および TIMPs 発現に及ぼす影響を調べた。また、TF 誘導性の MMPs および TIMPs 発現変化に関与する細胞内シグナル伝達経路を明らかにするために、MC3T3-E1 内の mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナル伝達因子のリン酸化に与える TF 負荷の影響を調べた。さらに、TF 負荷が RANKL, M-CSF および OPG 発現に及ぼす影響について調べた。

その結果、以下の結果および結論を得ている。

1. TF 負荷で、MMP-1, MMP-3 および MMP-13 発現は有意に低下し、TIMP-2 および TIMP-3 発現は有意に増加したが、MMP-2, MMP-14, TIMP-1 および TIMP-4 発現には TF 負荷の影響が認められなかった。
2. TF 負荷で、ERK1/2 のリン酸化は有意に低下し、SAPK/JNK のリン酸化は有意に増加したが、p38 MAPK のリン酸化には TF の影響が認められなかった。
3. ERK1/2 のリン酸化阻害剤処理は、MMP-1, MMP-3 および MMP-13 発現を低下させたが、TIMP-2 および TIMP-3 発現には影響が認められなかった。また、TF 負荷前の SAPK/JNK のリン酸化阻害剤処理は、TF 誘導性の TIMP-2 および TIMP-3 の発現増加を有意に抑制したが、TF 誘導性の MMP-1, MMP-3 および MMP-13 の発現減少には影響が認められなかった。
4. TF 負荷で、RANKL 発現は有意に低下し、OPG 発現は有意に増加したが、M-CSF 発現には TF の影響が認められなかった。

以上の結果から、TF 負荷は、骨芽細胞内の MAPK シグナル伝達経路を介して MMP-1, MMP-3 および MMP-13 産生を減少させる一方で、TIMP-2 および TIMP-3 産生を増加し、ECM タンパク分解を抑制するこ

とが明らかになった。また、骨芽細胞への TF 負荷 は、RANKL 発現減少と OPG 発現増加を誘導し、破骨細胞分化を抑制する可能性が示唆された。

以上のように、本研究は歯科矯正力を想定した TF 負荷が、骨芽細胞による ECM タンパクの代謝と破骨細胞の分化の調節機能に及ぼす影響を細胞および分子生物学的手法を用いて明らかにしたもので、歯科臨床医学とくに骨代謝領域の研究発展に寄与するところが大きい。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 28 年 3 月 9 日