

論文審査の結果の要旨

氏名：松生 理恵子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Continuous application of compressive force facilitates the formation of osteoclast-like RAW264.7 cells via upregulation of RANK and downregulation of LGR4

(持続的な圧迫力は RAW264.7 細胞における RANK の発現増加と LGR4 の発現減少を介して破骨細胞様細胞の形成を促進する)

審査委員：(主査) 教授 鈴木 直人

(副査) 教授 本吉 満

教授 川戸 貴行

教授 高橋 富久

骨吸収の主要な役割を担う破骨細胞の形成には、receptor activator of nuclear factor κ B (RANK) ligand (RANKL) が必須とされる。破骨細胞前駆細胞が発現する RANK に RANKL が結合すると、nuclear factor of activated T cells cytoplasmic 1 (NFATc1) が核内に移行し、細胞融合因子の dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP) と osteoclast-stimulatory transmembrane protein (OC-STAMP) の発現が促進して、多核を有する破骨細胞が形成される。矯正治療において圧迫力を受けた歯槽骨では骨吸収が促進し、歯は牽引側から圧迫側へと移動する。しかしながら、圧迫力が破骨細胞の分化に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで、申請者は、破骨細胞前駆細胞として RAW264.7 細胞に持続的な圧迫力を加え、DC-STAMP, OC-STAMP, RANK, および RANK と相反する機能を有する RANKL 受容体である leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor (LGR) 4 の発現、ならびに NFATc1 の核内移行を調べ、持続的な圧迫力が破骨細胞の分化に及ぼす影響を検討した。

本研究では、細胞培養に用いる培地量を増加することによって細胞に持続的な圧迫力を加えた。RAW264.7 細胞を 96 well プレートに播種後、一旦培地を取り除き、RANKL 添加 (RANKL 存在下) または非添加 (RANKL 非存在下) の培地 100 μ L を加えた。さらに、RANKL 非添加の培地を 0, 100 および 250 μ L 加えて、well 底面の細胞に約 0.3, 0.6 および 1.1 g/cm^2 の圧迫力を負荷した。破骨細胞様細胞への分化は、酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色で調べた。細胞融合因子と RANKL 受容体の遺伝子発現は real-time PCR 法で、細胞内の NFATc1 の局在は蛍光免疫染色で調べた。

その結果、以下の結果および結論を得ている。

1. 多核の TRAP 陽性細胞の数は、RANKL 存在下における 0.3 g/cm^2 の圧迫力に比べて 0.6 と 1.1 g/cm^2 の圧迫力で増加した。
2. RANK, DC-STAMP, OC-STAMP の発現は、RANKL 存在下における 0.3 g/cm^2 の圧迫力に比べて 0.6 または 1.1 g/cm^2 の圧迫力で増加した。
3. RANK の発現は、RANKL 非存在下における 0.3 g/cm^2 の圧迫力に比べて 0.6 と 1.1 g/cm^2 の圧迫力で増加した一方で、LGR4 の発現は減少した。
4. NFATc1 を核内に認める細胞の数は、RANKL 存在下における 0.3 g/cm^2 の圧迫力に比べて 0.6 と 1.1 g/cm^2 の圧迫力で増加した。

以上の結果から、持続的な圧迫力の負荷は、RAW264.7 細胞の RANK の発現増加と LGR4 の発現減少を誘導することで RANKL の結合を促進し、NFATc1 の核内移行と細胞融合因子の発現増加を介して、破骨細胞様細胞の形成を誘導することが明らかとなった。

以上のように、本研究は、歯科矯正治療において圧迫側の歯槽骨に認められる骨吸収には、RANKL 誘導性の破骨細胞分化の促進が関与することを明らかにしたもので、歯科矯正学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31年3月12日