

論文審査の結果の要旨

氏名：永 島 利 通

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：p53 ノックアウトマウスにおける骨芽細胞の増殖能と骨再生能について

審査委員：（主査） 教授 川 戸 貴 行

（副査） 教授 外 木 守 雄

教授 磯 川 桂 太郎

教授 高 橋 富 久

骨芽細胞の増殖は、その後の最終分化とともに骨基質の産生と石灰化を誘導するための重要な過程の一つであり、骨の形成と密接に関係している。これまでに、骨芽細胞の増殖を制御するメカニズムは解明されつつあるが、骨欠損の修復時における骨芽細胞の増殖を調節する全ての因子が同定された訳ではない。癌抑制遺伝子産物の p53 は細胞周期の停止、DNA の修復、代謝の阻害、老化の誘導およびアポトーシスの促進の他に、骨芽細胞の増殖と分化にも影響を及ぼすことが知られている。例えば、p53 トランスジェニックマウスは大腿骨や椎骨の骨量が減少するのに対して、p53 ノックアウト (p53KO) マウスでは骨量が増加し、その結果、どちらのマウスも骨格形成に異常が生じる。これらの報告は、p53 欠損が骨形成を促進することを示すものだが、p53 欠損が骨芽細胞の増殖と骨欠損部の骨再生に与える影響については不明な点が多い。

そこで、本研究では、p53KO マウスの骨芽細胞の増殖能と骨欠損部における骨再生能について、野生型 (WT) マウスと比較検討した。

骨芽細胞は、6~8 週齢雄性 p53KO マウスと WT マウスの頭蓋冠から分離した。両マウスの骨芽細胞の増殖能は、組織染色、proliferation assay, scratch test によって評価した。また、quantitative real-time RT-PCR (qPCR) によって cyclin A2, B1, E1 の遺伝子発現を調べた。さらに、6 週齢雄性 p53KO マウスと WT マウスの大腿骨骨幹中央部に円筒形の骨欠損を作成し、欠損部の修復過程をマイクロ CT で観察するとともに、欠損部のパラフィン切片を作成し、3, 5, 7 日目の Runx2, osterix, sclerostin の発現を免疫組織化学的に評価した。同時に欠損部から再生骨を含む組織を採取し、qPCR によって Runx2, osterix, sclerostin の発現レベルを調べた。一方、両マウスの脛骨の骨髄から分離した単球/マクロファージを macrophage-colony stimulation factor と receptor activator of nuclear factor κ B ligand で刺激し、破骨細胞数について tartrate-resistant acid phosphatase 染色によって比較した。

その結果、以下に示す結論を得た。

1. p53KO マウスの骨芽細胞増殖能は、WT マウスの骨芽細胞よりも高かった。
2. 骨再生による欠損部の閉鎖は、WT マウスと比較して p53KO マウスの方が早かった。
3. p53KO マウスの骨芽細胞には Runx2 と osterix の強い発現がみられた。
4. p53KO マウスの骨細胞は sclerostin の発現が極めて弱かった。
5. p53KO マウスの単球/マクロファージの破骨細胞形成能は低かった。

以上のように、本研究は p53 欠損が骨芽細胞の増殖を促進し、骨欠損部における骨再生を早めることを明らかにしたもので、得られた結果は口腔外科学ならびに関連歯科医学の発展に寄与するところが大きいと考える。

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

令和4年3月10日