

氏名(本籍)	橋爪裕 (茨城県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第1,923号
学位授与年月日	平成10年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	培養破骨細胞の酸性化とその調節機構の解析
主査	筑波大学教授 医学博士 河野邦雄
副査	筑波大学教授 工学博士 大島宣雄
副査	筑波大学教授 歯学博士 吉田廣
副査	筑波大学助教授 理学博士 志賀隆

論文の内容の要旨

(目的)

破骨細胞は高い骨吸収活性を有する多核巨細胞である。本研究では骨吸収に重要な破骨細胞の酸性化(酸の産生、貯蔵)の調節機構の解明を目的として、まず簡便で正確に酸性化を評価できる方法の開発を試みた。次にこの方法を用いて酸性化と破骨細胞の形態との関連を検討し、形態形成に関わる因子の解析を行った。さらに関節滑膜組織中にしばしば見られる多核巨細胞に注目し破骨細胞との共通性の有無を検討した。

(対象と方法)

10日齢の日本白色種ウサギの長管骨の骨髓より破骨細胞を採取、無処理、I型コラーゲン、ビトロネクチン、象牙片、をそれぞれコートしたカバーガラス上で培養、基質への接着活性を見た。破骨細胞は細胞の大きさと3個以上の多核という形態的特徴から同定した。細胞小器官のpH測定はdextran-fluoresceinを取り込ませ、励起波長490nmと450nmで励起したときの蛍光強度の比(F490/F450)によりpHを求めた。空胞化調節因子の解析には全骨細胞を1カ月継代培養し骨芽細胞だけとしたものを10cmの培養皿に播き4日間培養後に培養上清を用いた。変形性股関節症の滑膜は人工股関節全置換術を行った10例の患者より採取した。

(結果と考察)

産出された酸の貯蔵場所であり将来骨吸収に放出されることが予想される破骨細胞の小胞は、その数や大きさに平行してpHが低く保たれていることが明らかになり、象牙片上で培養した破骨細胞の小胞の方がカバーガラス上で培養された破骨細胞の小胞よりもpHが有意に低く保たれている事実は破骨細胞が骨基質との接触により活性化されることを示している。ビトロネクチン上で培養された破骨細胞が小胞のpHを低下させたが、コラーゲンの代表的なリガンドである $\alpha 2 \beta 1$ インテグリンが破骨細胞の酸の生産貯蔵に影響を及ぼしている可能性がある。全骨細胞の4日間の培養上清には熱に耐性で分子量が10 KDa以下の破骨細胞の空胞化促進因子が含まれるが、細胞の極性、空胞内のpHから見て通常の破骨細胞の空胞化とは異なる性質のものであると考えられる。変形性股関節症に出現する多核巨細胞は異物巨細胞の特徴も有するが、酸産生、貯蔵能も高く象牙片との接触では酸産出能が亢進するところから破骨細胞と同様に骨や軟骨の破壊への関与が示唆される。

審査の結果の要旨

FITC-dextran を蛍光 pH プローブとして利用して破骨細胞に含まれる小胞内の pH を測定する方法を確立し、その方法を用いて破骨細胞の骨吸収調節メカニズムを明らかにした。さらに変形性股関節症の患者から得られた多核巨細胞の特徴を分析しその病態生理の解析にも有効であることを示した。今後の発展が期待できる優れた論文で、学位論文として評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。