

ふりがな ひろせ さとし
氏 名 広瀬 聡
学 位 博 士 (歯学)
学 位 記 番 号 新大院博 (歯) 第 101 号
学位授与の日付 平成 19 年 3 月 22 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博 士 論 文 名 A histological assessment on the distribution of the osteocytic lacunar-canalicular system and its relation with bone remodeling (骨細胞・骨細管系の構築と骨リモデリングに関する組織学的検索)

論文審査委員 主査 教授 網塚憲生
副査 教授 齊藤 力
教授 織田公光

博士論文の要旨

骨細胞は骨基質中の骨小腔に存在する細胞であり、多数の細胞突起を骨細管内に伸ばして骨基質内に張り巡らせている。これらの骨細胞の細胞突起は、骨細胞や骨芽細胞の突起とギャップ結合で連絡することで骨細胞・骨細管系(osteocyte lacunar-canalicular system)を形成し、1つの機能的合胞体を作っている。また、骨組織は常に骨リモデリングが行われており、それは力学負荷や血清カルシウムによって調節されている。一方、骨細胞によるミネラルなどの物質輸送や力学感知が推測されていることから、骨改造と骨細胞・骨細管系の構築には何らかの関連性があると推測された。そこで、本研究では骨改造とともに骨細胞・骨細管系の分布がどのように変化するか組織化学的に検索した。

実験方法としては、生後 3 日および 2, 3, 4, 8, 12 週齢の雄性 C57BL/6 系マウス、ならびに生後 8 週齢の野生型ならびに osteoprotegerin 遺伝子欠損(OPG^{-/-})マウスの大腿骨をパラホルムアルデヒド灌流固定し、EDTA 脱灰後、通法によりパラフィンならびに epoxy resin 樹脂に包埋した。パラフィン切片では、Schoen によって開発された鍍銀染色法を施すと同時に、一部の切片はアルカリ性ホスファターゼ(ALP)免疫染色、あるいは Azo 色素法による酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(TRAP)組織化学との二重染色を行った。また Epon 包埋試料は、超薄切片作成後にウラン・クエン酸鉛の電子染色を施し、透過型電子顕微鏡にて微細構造観察を行った。生後 3 日 - 生後 3 週齢マウスの大腿骨骨幹端の骨梁および皮質骨において、細胞体の豊かな骨細胞は散在的に局在し、また骨細管を放射状に伸ばしていた。このような骨細胞を含む骨基質は幼弱な線維性骨を示しており、コラーゲン線維の走行は不規則であった。すなわち、

これらの骨基質は緻密骨に至っていないことが示唆された。これに対して、生後4週齢マウスの大腿骨骨幹端の骨梁および皮質骨では、骨細胞は扁平化し、その長軸を骨の長軸方向に平行になるように局在していた。さらに、骨細管は骨表面に対して垂直に伸びる傾向が認められた。このような骨細胞・骨細管系の配列は、4週、8週、12週と経るにつれて規則性を増しており、皮質骨を電顕観察すると束状のコラーゲン線維が規則正しく走行しており、その走行を妨げないように骨細胞が紡錘形状に扁平化していた。さらに、骨リモデリングの指標であるセメントラインの分布から、週齢を経て骨リモデリングが繰り返されるごとに骨細胞・骨細管系が幾何学的に規則的になることが示唆された。一方、骨細胞・骨細管系の走行と骨表面の骨リモデリングの関係を観察すると、規則的な骨細管配列を有する部位ではALP陽性骨芽細胞は扁平化し、TRAP陽性破骨細胞はあまり存在しないのに対して、一方、骨細管の走行が不規則な部位では、活性型骨芽細胞と多数の破骨細胞が存在し、活発な骨リモデリングが認められた。

次に、骨代謝回転が亢進しているOPG^{-/-}マウスを用いて検索すると、多数の破骨細胞とセメントライン、ならびに活性型骨芽細胞が存在したことから骨リモデリングの上昇が示唆された。同週齢の野生型マウスと比較した場合、OPG^{-/-}マウスの大腿骨では、細胞体の豊かな骨細胞が散在し、様々な方向に骨細管を伸ばしていた。また、網目状に形成されたセメントラインが骨細管や骨細胞を横断する像が認められた。以上から、OPG^{-/-}マウスのように骨代謝回転が亢進した場合には、幾何学的に規則的な骨細胞・骨細管系は形成されないと考えられる。

以上の研究から、骨細管系が規則正しく構築された部位は、骨改造が進み緻密な骨を作り上げていると推測された。また、骨リモデリングは単に骨基質の置換だけではなく、骨細胞・骨細管系の規則的な配列を誘導すると考えられる。

審査結果の要旨

本研究は、骨リモデリングと骨細胞・骨細管系の構築における関連性を組織学的に明らかにしたものであり、1)骨細管系が規則正しく構築された部位は、骨リモデリングで誘導された緻密骨を示すこと、2)骨リモデリングは単に骨基質の置換だけではなく、骨細胞・骨細管系の規則的な配列を誘導すること、3)骨リモデリングの異常によって骨細胞・骨細管系の配列にも影響が出ること、を各週齢のマウス、ならびにosteoprotegerin (OPG)遺伝子欠損マウスを用いて組織学的・微細構造学的に明らかにしている。骨細胞は多数の細胞突起を骨細管内に伸ばして細胞性のネットワークを形成しており、ギャップ結合で互いに連絡することで骨細胞・骨細管系と呼ばれる1つの機能的合胞体を作っている。皮質骨において、骨細胞は骨表面に存在する骨芽細胞よ

輸送、力学感知の点から検索されている。今回、その骨細胞・骨細管系が骨リモデリングとともに幾何学的に規則性を有することを明らかにした点で、骨代謝調節に関する重要な研究と考えられた。

申請者は、マウスの週齢とともに骨リモデリングが進んだ皮質骨では、骨細胞は扁平化して均等に配列し、その長軸を骨軸に平行に局在させていること、また、骨細管をそれに対して垂直に伸ばしていることを明らかにしている。皮質骨は高度に石灰化し、コラーゲン線維が束を形成して規則的に配列する緻密骨である。このような皮質骨において、骨細胞の突起が一定方向に伸びながらもコラーゲン線維束に三次元的に関連していることは、コラーゲン線維束を介した力学感知を行っている可能性を示唆していると考えられた。さらに、骨細胞が骨の長軸方向に沿って扁平化する現象は、biomechanics 的な研究報告を考慮すると合理的な形状と考えられ、また、それに対して均等に垂直に伸びる細胞突起は骨細管内のミネラルなど微小物質の輸送に効率的な構造を示すと推測している。これに対して、胎生期あるいは生後3週までのマウスでは、骨梁および皮質骨ともに幼弱な線維性骨が観察され、そこに存在する骨細胞には上記の規則性は認められず、また骨基質のコラーゲン線維と骨細管系との関連性は見いだせないことを明らかにしている。このことから、急速な骨形成期では骨細胞・骨細管系が骨基質を維持するよりも、骨基質を量的に充足させる必要性が優先される可能性を考察している。さらに、骨リモデリングが OPG 遺伝子欠損マウスのように病的に亢進した場合には、骨細胞・骨細管系の配列が乱れるとともに、網目状に張り巡らされたセメントラインによって分断化されてしまうことを観察している。これらの事実から、生理的な骨リモデリングによって、骨細胞・骨細管系の正常な構築が誘導されることを申請者は推察している。

以上、本研究は、骨リモデリングと骨細胞・骨細管系の構築における関連性を組織学的に明らかにしており、学位論文としての価値を認める。