

-大学院歯学独立研究科-
第 79 回 大学院 研究科 発表会 プログラム
第 97 回 中間 発表会 プログラム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。
 どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所:実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室
 日 時:2018 年 10 月 24 日(水)17 時 25 分 開会
 2018 年 10 月 25 日(木)17 時 25 分 開会

—2018 年 10 月 24 日(水)—

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 高橋研究科長	
1	[大学院発表] 17:30~18:00 司会:宇田川 教授	「歯髄における破歯細胞の分化抑制のメカニズム解析」 西田大輔 4 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織機能解析学	主査:石原教授 副査:川上教授 中村教授
2	[大学院発表] 18:00~18:30 司会:川原 教授	「小児の歯肉炎リスク判定における唾液検査の有効性」 薦田 智 4 年 健康増進口腔科学講座 口腔健康政策学	主査:吉田教授 副査:音琴教授 正村准教授
3	[大学院発表] 18:30~19:00 司会:中村 教授	「デンティンブリッジ形成過程における古典的 Wnt シグナルの役割」 原 弥革力 4 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:長谷川教授 副査:石原教授 田所准教授
4	[中間発表] 19:00~19:30 司会:小笠原 教授	「笑気吸入が交感神経性圧受容器反射感受性に与える影響」 (Effects of nitrous oxide sedation on sympathetic baroreflex sensitivity) 磯野員達 松本歯科大学地域連携歯科学講座 助手	主査:澁谷教授 副査:富田教授 十川教授

—2018 年 10 月 25 日(木)—

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 高橋研究科長	
5	[大学院発表] 17:30~18:00 司会:富田 教授	「高齢者の現在歯数に影響を与える因子」 内川竜太郎 4 年 健康増進口腔科学講座 口腔健康政策学	主査:小笠原教授 副査:羽鳥教授 荒 講師
6	[中間発表] 18:00~18:30 司会:芳澤 教授	「BMP 誘導性の異所性骨における骨形成抑制因子スクレロチンの 発現解析」 松下雅衣 3 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:中村教授 副査:長谷川教授 八上准教授

発表内容の要旨(課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1404	入学年 Entrance Year	2014 年 Year
(ふりがな)	にしだ だいすけ		
氏名 Name in Full	西田 大輔		
専攻分野 Major Field	硬組織機能解析学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	宇田川 信之		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
歯髄における破骨細胞の分化抑制のメカニズム解析			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 歯髄に破骨細胞(以下、破骨細胞)は存在しない。一方、炎症、外傷、感染などにもない、歯髄側の象牙質に破骨細胞が出現し、内部吸収が惹起されることが知られている。以上の所見は、正常な歯髄組織では、破骨細胞の形成が抑制されていることを示唆する。本研究は、歯髄組織内における破骨細胞形成の抑制メカニズムを明らかにすることを目的とした。</p> <p>破骨細胞は、骨芽細胞が発現する RANKL(receptor activator of NF-κB ligand)により分化が誘導される。OPG(osteoprotegerin)は RANKL のデコイ受容体であり、破骨細胞分化を抑制する。以前 Zheng らは、歯髄では OPG の発現が高く、その結果、破骨細胞形成が抑制されることを報告した (<i>J Dent Res</i> 94:821-7,2015)。そこで本研究は、OPG 欠損マウスの歯髄の組織学的解析を行った。</p> <p>【方法と結果】 (1)「象牙芽細胞の解析」:タイプ I コラーゲン(Coll)およびNestinは、象牙芽細胞のマーカータンパク質として知られている(<i>Angle Orthod</i> 81:284-91,2011)。Coll または Nestin のプロモーターの下流で GFP(green fluorescent protein)を発現するマウスと OPG 欠損マウスを交配し、OPG 欠損/Coll-GFP および OPG 欠損/Nestin-GFP マウスを作製した。これらのマウスの凍結切片を作製し、野生型と OPG 欠損マウスの象牙芽細胞を解析した。その結果、Coll 陽性の象牙芽細胞は、野生型と OPG 欠損マウスに違いは認められなかった。同様に、Nestin 陽性の象牙芽細胞は、野生型と OPG 欠損マウスに違いは認められなかった。 (2)「破骨細胞の解析」:野生型および OPG 欠損マウスの上顎骨のパラフィン切片を作製した。TRAP(酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ)およびカタレプシン K をマーカーとして、野生型と OPG 欠損マウスの歯髄および歯槽骨における破骨細胞を観察した。その結果、OPG 欠損マウスの歯槽骨では破骨細胞が多く認められた。一方、野生型だけではなく、OPG 欠損マウスの歯髄でも破骨細胞は認められなかった。 (3)「破骨細胞前駆細胞の解析」破骨細胞前駆細胞は血球系の細胞である。また、CD31 と VE-cadherin は血管内皮細胞のマーカータンパク質として知られている(<i>Dev Cell</i> 29:340-9,2014)。これらの抗体を野生型マウスに注射し、血管を染色した。その後、上顎骨の凍結切片を作製した。血球系細胞のマーカータンパク質である CD45 と Ter119 (<i>Dev Cell</i> 29:340-9,2014)の抗体を用いて、歯髄の血球系細胞を解析した。その結果、歯槽骨では、血管内と血管外に血球系細胞が認められた。一方、歯髄では、血管内にはのみ血球系細胞が認められ、血管外には認められなかった。 (4)「外部刺激後の歯髄の解析」:外部刺激による歯髄の破骨細胞分化を観察した。野生型および OPG 欠損マウスの咬頭をバーにて切削し、点状露髄させ 2 週間飼育した。パラフィン切片を作製し、TRAP 染色を行った。その結果、野生型、OPG 欠損マウス共に外部刺激を加えても、歯髄に破骨細胞は認められなかった。</p> <p>【結論】 OPG 欠損マウスの歯髄に破骨細胞は存在しなかった。以上は、正常な歯髄において、破骨細胞形成抑制に OPG は必要ない事を示す。一方、歯髄組織において血球系細胞は血管外には存在しなかった。以上は、正常な歯髄組織では、破骨細胞前駆細胞が硬組織に遊走・分化しないため、破骨細胞が存在しない可能性が示された。しかし、切削による外部刺激後も、野生型、OPG 欠損共に歯髄に破骨細胞は認められなかった。以上より、外部刺激時における歯髄組織には、OPG 以外による破骨細胞分化の抑制機構が存在すること示唆された。</p>			

発表内容の要旨(課程博士)
Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G	1504	入学年 Entrance Year	2015	年 Year
(ふりがな)	こもだ		さとし		
氏名 Name in Full	薦田		智		
専攻分野 Major Field	健康増進口腔科学講座 口腔健康政策学				
主指導教員 Chief Academic Advisor	川原		一郎		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society				
演題名 / Title of Presentation					
小児の歯肉炎リスク判定における唾液検査の有効性					
発表要旨 / Abstract					
<p>【目的】 歯周疾患と齲蝕はともに生活習慣の中に悪化因子を持つ口内常在菌の感染疾患である。発表者はこれまでの臨床的経験から、特に小児患者においては歯肉炎と齲蝕を両方発症する例が多いと感じていた。しかし、歯肉炎と齲蝕の罹患リスク判定の検査は、それぞれ別であり、相互の関連性を推測できる指標はない。本研究は小児患者を対象に歯肉炎と齲蝕のそれぞれの指標の相関を検討することにより歯周疾患と齲蝕の罹患リスクの関連性を明らかとすることを目的とした。</p> <p>【方法と標本】 口腔内に症状を及ぼす重篤な全身疾患を持たない15歳未満の健常者26名(男児12名、女児14名)を検査対象とした。調査は初診時の検査から3~4ヶ月後に再検査を行い比較検証した。視診による齲蝕経験歯数唾液検査、口腔内写真によるPMAスコア(歯肉炎指数)判定、プラーク染め出しからPCR(%)計測、刺激唾液の採取による流出量測定、唾液緩衝能測定、口腔内の細菌数測定では培養によるミュータンス菌とラクトバチルス菌の数を計測した。歯肉炎群と健常者群との有意差検定には、統計解析ソフト「R commander」のBrunner-Munzel test、相関係数にはピアソンの積率相関係数、歯肉炎悪化要因の抽出には多重ロジスティック回析、PMAスコアへの影響を与える因子の調査ではステップワイズ法による重回帰分析をそれぞれ行なった。</p> <p>【結果】 結果はPMAとPCRの相関性は初診・再診時共に確認されなかった。一方で初診時と比較し再検査時にPMAが改善した群は多くの症例でミュータンス菌コロニー数が減少(相関係数:0.63)し、反対にPMA悪化群は多くで菌数の増加(相関係数:0.64)が確認された。学童期を対象とした過去の研究でCPIコード0では平均PMAが7.8との報告がある。PMAスコア7以上を歯肉炎群と設定し、対照群と比較した初診・再診時のミュータンス菌数を比較すると有意差が確認された。重回帰分析を使用した評価では、唾液中のミュータンス/ラクトバチルス菌数が100増える毎にPMAスコアが0.76/0.42ポイントそれぞれ上昇し、標準化偏回帰係数からミュータンス菌の方がPMA指数悪化への寄与が高い結果が確認された。次に多重ロジスティック回帰分析を使用した評価では再診時にPMAに改善した者は悪化した者と比較し、ミュータンス菌コロニー数の減少が確認された(オッズ比:12.20, p=0.018)。</p> <p>【まとめ】 唾液中ミュータンス菌数の増加は歯肉炎指数と関連する重要なリスク因子となることが認められた。また、歯肉炎指数に大きな増加または減少がみられた場合は、ラクトバチルス菌数の関連が示唆された。これまでプラークコントロールの指導にPCRを指標として用いていたが、唾液中ミュータンス菌数を指標とすることで歯肉炎のハイリスク者をふるい分けることができ有用であることが示唆された。</p>					

発表内容の要旨(課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G	1506	入学年 Entrance Year	2015	年 Year
(ふりがな)	はら			みろく	
氏名 Name in Full	原 弥革力				
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学				
主指導教員 Chief Academic Advisor	中村		浩彰		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会・大学院研究科発表会・松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society				
演題名 / Title of Presentation					
デンティンブリッジ形成過程における古典的 Wnt シグナルの役割					
発表要旨 / Abstract					
<p>【目的】 歯科臨床では齲蝕が歯髄深部に到達すると多くの場合は抜髄処置が施される。しかし、抜髄によって歯髄を失った歯は、破折のリスクが高くなり結果的に歯の寿命は短くなってしまふ。したがって、直接覆髄法により象牙質を効率よく修復することができれば、抜髄の適応が減少し歯髄を保存できると考えられる。一方、象牙芽細胞の分化には古典的 Wnt シグナルの重要性が明らかにされ、直接覆髄後のデンティンブリッジ形成にも Wnt シグナルが深く関与していると報告されている。しかしながら、その過程における細胞動態や Wnt リガンドの局在については不明な点も残されている。そこで、マウスの歯に直接覆髄モデルを作製し、デンティンブリッジ形成過程における古典的 Wnt シグナルに関与する因子の局在を免疫組織学的に解析した。</p> <p>【方法】 マウスの上顎第一臼歯にラウンドバーにて窩洞形成し、露髄後 MTA セメントにて直接覆髄し、グラスイオノマーセメントにて封鎖した。処置後 1 日、4 日、7 日、14 日、28 日に上顎骨を摘出し、4%パラホルムアルデヒド溶液にて 24 時間固定後、μCT にて硬組織形成の有無を確認した。その後、10%EDTA にて 4°C、2週間脱灰し、パラフィンに包埋した。厚さ 4 μm の切片を作製し、Wnt3a、Wnt10a、β-catenin の局在を免疫組織化学的に解析した。また、デンティンブリッジ形成過程におけるマクロファージの関与を明らかにするために F4/80 陽性細胞の分布を検討した。</p> <p>【結果】 直接覆髄後 1 日のマウス歯髄では窩洞形成の刺激により覆髄部直下の象牙芽細胞は壊死しており、その周辺の象牙芽細胞に Wnt3a、Wnt10a の弱い陽性反応を認めた。しかし、象牙芽細胞の核には β-catenin 陽性反応はほとんどみられなかった。直接覆髄後 4 日、7 日では覆髄部周囲の象牙芽細胞が Wnt3a、Wnt10a の陽性反応を示すとともに、象牙芽細胞の核と歯髄細胞の核に β-catenin 局在が認められた。直接覆髄後 14 日では覆髄部周辺に修復象牙質が形成されており、その表面に配列した修復象牙芽細胞は Wnt3a、Wnt10a 陽性反応を示した。また、修復象牙芽細胞の核とその周辺に存在する歯髄細胞の核に β-catenin 局在が認められた。さらに、露髄部周囲と歯髄中央部には MTA セメントを取り込んだ大型の F4/80 陽性マクロファージが多数観察され、これらの細胞に Wnt10a 陽性反応が認められた。直接覆髄後 28 日のマウス歯髄では覆髄部直下にデンティンブリッジが形成されており、その表面に接した修復象牙芽細胞に Wnt3a と β-catenin の陽性反応が観察された。</p> <p>【考察】 修復象牙質およびデンティンブリッジに接した修復象牙芽細胞とその周辺に存在する歯髄細胞の核に β-catenin 陽性反応を認めたことから、これらの細胞で Wnt シグナル伝達が生じていることが明らかになった。また、覆髄後 4 日、7 日には覆髄部周囲の象牙芽細胞に Wnt3a、Wnt10a 発現がみられたことから、直接覆髄後初期の修復象牙質形成には、象牙芽細胞由来の Wnt が重要であると考えられた。一方、直接覆髄後 14 日では露髄部周囲と歯髄中央部のマクロファージが Wnt10a を発現していたことから、後期においては象牙芽細胞に加え、マクロファージ由来の Wnt が修復象牙質形成に関与していると示唆された。</p>					

発表内容の要旨(論文博士)

Abstract of Presented Research (For Doctoral Thesis Evaluation)

(ふりがな)	いその	かずしげ
氏名 Name in Full	磯野	員達
現在の職業 Present Occupation	松本歯科大学 地域連携歯科学講座 助手	
指導教員又は 本研究科紹介教員 Academic Advisor or Referee	小笠原 正	
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society	
演題名 / Title of Presentation		
笑気吸入が交感神経性圧受容器反射感受性に与える影響 (Effects of nitrous oxide sedation on sympathetic baroreflex sensitivity)		
発表要旨 / Abstract		
<p>【緒言】 笑気吸入鎮静法(IS)は不安, 恐怖心の強い患者等に应用される精神鎮静法である. 動脈圧は圧受容器反射により維持・調整されているが, 亜酸化窒素(N₂O)吸入が圧受容器反射感受性(BRS)に影響するかは不明である. そこで, IS 中に連続血圧と, マイクロニューログラフイーを用いて筋交感神経活動(Muscle Sympathetic Nerve Activity : MSNA)を同時測定し, 動脈圧の変動に対する末梢血管調節性交感神経活動の変化量から BRS を検証した.</p> <p>【方法】 健常成人男性 10 名[30 ±1 歳]を対象に, 水平仰臥位でルームエアー, 100%酸素(O₂), 30%N₂O, 40%N₂O をそれぞれ 20 分間吸入した後, 各条件下で心拍数(HR), 心拍出量(CO), 1 回拍出量(SV), 連続血圧および MSNA を 5 分間測定した. さらに, O₂ を 20 分間吸入した後に回復期を設け, ルームエアーで 5 分間同様の測定をした. BRS の評価のために, まず, 連続血圧の拡張期血圧(DBP)を 3mmHg 毎にグルーピングを行い, 各グループの DBP 平均値を DBP の代表値とし, 100 拍あたりの MSNA のバースト数(BI)とバースト面積(Total MSNA)を MSNA 代表値とした. 各グループの DBP と BI および Total MSNA 代表値から求めた直線回帰の傾きを交感神経性圧受容器反射感受性(sBRS)とした^{1,2)}. 循環指標, MSNA, および sBRS の比較は等分散性を確認後に IS コンディション [RA, 100%O₂, 30%IS, 40%IS, 回復期] を要因とした一元配置分散分析を用いて行った. 多重比較検定は一元配置分散分析が有意であった時のみ, Tukey Test を用いて行った. また, 有意水準を 0.05 とした.</p> <p>【結果】 各 IS 条件間で HR, CO, アームカフ血圧に差はなかった. また, DBP と BI および Total MSNA で求めた sBRS は両者とも IS 濃度による変動を示さなかった.</p> <p>【考察】 アームカフ血圧に変化がなくとも中枢性に設定されたオペレーティングポイント(OP)に効率よく血圧を維持する調節能が低下していると, OP 周囲での血圧変動の程度が大きくなり³⁾, リスクのある血圧域に瞬時に達する可能性が高まる. つまり, 歯科治療中に血圧の安全域からの逸脱が起こり, 循環器イベントが発生するリスクが高まることが予想される. とりわけ, 循環予備力の低下した高齢者や先天性心疾患患者は安全域が狭く致命的な問題となりうる. 結果より, 30, 40%IS は血圧中枢での OP の設定に変化を及ぼすことなく, 求心路血圧信号から誘発された遠心路交感神経活動の感度も維持されていた. つまり, OP の周囲を変動する血圧の振幅に IS が影響を与えないことが示唆された. さらに, 30%IS を開始してから至適鎮静が得られるまでの時間は, 10 分以降とされている⁴⁾ことから, 本研究では 20 分間の N₂O 持続吸入後に BRS の評価を行った. 歯科臨床の際に 20 分以上継続された 30, 40%IS であっても, 血圧変動幅に変化はみられず, 中枢性血圧調節機構が IS 前と同程度に維持されていると示唆された.</p> <p>【参考文献】 1) Halliwill JR. J Appl Physiol 2000;88:767-773. 2) Okada Y et al. Hypertension 2012;59(1):98-104. 3) G. Mancina et al. Hypertension 1986;8(2):147-153. 4) 國分正廣. 日歯麻誌 1977;5:289-30</p>		

発表内容の要旨(課程博士)

Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1502	入学年 Entrance Year	2015 年 Year
(ふりがな)	うちかわ	りゅうたろう	
氏名 Name in Full	内川 竜太朗		
専攻分野 Major Field	健康増進口腔科学口腔健康政策学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	富田 美穂子		
発表会区分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
高齢者の現在歯数に影響を与える因子			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 現在、超高齢社会を向えた日本では、8020 運動が推進され歯の重要性が高まり、口腔内に意識を持つ人が増加している。歯の喪失は骨粗鬆症や飲酒・喫煙・食生活・口腔保健知識などと関連性があるという報告があるが、現在歯数を多く保つ要因について調べた報告は少ない。そこで、高齢者の口腔内の状態及び生活習慣、口腔保健行動との関連性を調べ、現在歯数を保つために必要な要因を探り、今後の指導方針を確立することを目的とする。</p> <p>【方法】 65 歳以上の 56 名 (男:女=31 名:25 名) を対象に、現在歯数、刺激時唾液量 (ml/5min)、唾液緩衝能 (4 段階評価)、プラーク・コントロール・レコード (PCR%)、歯周疾患の評価としてプロービングデプス (PD)、歯周検査時出血率 (BOP%)、動揺度率 (全顎における動揺歯の比率) を測定した。さらに、Breslow の 7 原則 (喫煙・定期的な運動・飲酒・睡眠時間・体重の維持・朝食・間食) の生活習慣における質問及び口腔衛生習慣としてフッ化物の使用状況における質問を実施した。これらの結果を現在歯数が 20 歯以上の群 (30 名、平均年齢 72.5 歳) と 20 歯未満の群 (26 名、平均年齢 75.1 歳) に分け、各項目でロジスティック回帰分析の 2 群間の比較検討を行った。さらに、現在歯数と各項目の相関関係を調べた。</p> <p>【結果】 現在歯数別のロジスティック回帰分析の 2 群間比較の結果は緩衝能 (OR=0.22 ; 95%CI=0.067-0.722)、動揺度率 (OR=1.098 ; 95%CI=1.017-1.185)、平均 PD (OR=2.083 ; 95%CI=1.07-4.057)、生活習慣 (OR=0.395 ; 95%CI=0.181-0.861)、体重維持 (OR=0.024 ; 95%CI=0.04-0.797) で現在歯数と有意な関連 (p<0.05) を示した。現在歯数との各項目の相関係数は、緩衝能 0.55、生活習慣 0.291、フッ素の使用状況 0.478、PCR-0.302、平均 PD-0.414、BI-0.504、動揺度率-0.599、年齢-0.2、唾液量 0.174 であり、現在歯数と緩衝能、PCR、平均 PD、BI、動揺度率、生活習慣、フッ素の使用状況、に有意な相関を認められたが、年齢および唾液量に有意な相関は認められなかった。</p> <p>【結論および考察】 本研究において、唾液量は現在歯数との相関や 2 群間比較での有意差が認められなかったのに対し、唾液の緩衝能は現在歯数との正の相関及び 2 群間比較に有意差が認められた。唾液の緩衝能は歯質の脱灰を防ぎ齲蝕罹患状態と関係が深く現在歯数を維持する上で重要な要因になり得ると考えられた。平均 PD・動揺度において現在歯数との負の相関及び 2 群間比較に有意差が認められた。歯周疾患の重症化や動揺歯の存在による咬合支持域の低下による残存歯への負担過重が喪失歯のリスクを高くすると考えられる。生活習慣は現在歯数との正の相関及び 2 群間比較に有意差が認められ、項目別では体重の維持に 2 群間比較での有意差が認められた。食生活で体重を維持することなど、規則正しい生活を送ることが現在歯数にも影響することが考えられる。また、フッ素の使用は現在歯数と正の相関を認めたことから成人においても習慣的なフッ素の使用が現在歯数の維持に効果的であると考えられる。これらの結果より、唾液検査及び歯周基本検査を若年者から実施することでハイリスク者を早期に抽出し、危険因子の説明と歯周基本治療の徹底及び定期検診の短期化を行い、また同時に生活習慣等の問診から生活習慣の改善やフッ化物使用などの各個人に適した指導が重要であると考えられた。</p>			

発表内容の要旨(課程博士)
Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)

学籍番号 Student ID No.	ID#G 1613	入学年 Entrance Year	2016 年 Year
(ふりがな)	まつした	まい	
氏名 Name in Full	松下	雅衣	
専攻分野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	芳澤	享子	
発表会区分 Type of Meeting	<input type="checkbox"/> 中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 <small>Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society</small>		
演題名 / Title of Presentation			
BMP 誘導性の異所性骨における骨形成抑制因子スクレロスタチンの発現解析			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 骨代謝調節の一端を担うスクレロスタチンは、骨形成を抑制する役割をもつ。スクレロスタチンは骨細胞において特異的に分泌されて、骨細胞マーカーとしても知られている。マウス長管骨において 4 週齢から 20 週齢にかけて成長に伴いスクレロスタチンの発現が強くなることが報告されている。本研究では、BMP 誘導性の異所性骨形成過程におけるスクレロスタチンの発現を解析することを目的とした。</p> <p>【方法】 コラーゲンペレットを BMP-2 に浸漬し、7 週齢雄のマウスの右側大腿部内側に BMP ペレットを埋入した。その後、7 日、10 日、2 週間、4 週間、6 週間経ったのち BMP により誘導された異所性骨を採取した。採取した異所性骨をマイクロ CT で解析したのちパラフィン切片を作成し、組織学的解析としてアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色、酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色、抗スクレロスタチン抗体染色を行った。</p> <p>【結果】 BMP ペレット埋入後 7 日で回収した異所性骨: マイクロ CT で解析できるほどの石灰化がなされていなかった。組織学的解析では、移植した BMP ペレットを取り囲む軟骨様組織を含む結合組織を認めた。ALP 染色では強陽性であったが、TRAP 染色では多核の陽性細胞は認めなかった。抗スクレロスタチン抗体染色では、陽性の軟骨細胞を認めた。 BMP ペレット埋入後 10 日で回収した異所性骨: マイクロ CT において、BMP ペレットを取り囲むような石灰化像を認めた。組織学的解析では軟骨様組織と骨様組織を認めた。ALP 染色では強陽性を示し、TRAP 染色でも多数の TRAP 陽性多核細胞を認めた。抗スクレロスタチン抗体染色では、軟骨様組織にスクレロスタチンに陽性の軟骨細胞を認め、骨様組織にもスクレロスタチン陽性骨細胞の出現を認めた。 BMP ペレット埋入後 2 週間で回収した異所性骨: マイクロ CT において、BMP ペレットを完全に囲む多孔質な石灰化像を認めた。組織学的解析では、埋入後 10 日で認められた軟骨様組織はほぼ消失し、骨様組織が占めていた。ALP 染色・TRAP 染色ともに強い陽性を示し、抗スクレロスタチン抗体染色でも多数の骨細胞で陽性を示した。 BMP ペレット埋入後 4 週間で回収した異所性骨: マイクロ CT において、石灰化物の密度が充進するとともに、外殻の厚さは薄くなっていた。組織学的解析では、層板様構造の石灰化物が認められた。ALP 染色は陽性ではあるが埋入後 2 週間よりも弱陽性であり、TRAP 染色では陽性細胞はほぼ認められなかった。抗スクレロスタチン抗体染色では骨細胞で陽性を示した。 BMP ペレット埋入後 6 週間で回収した異所性骨: マイクロ CT において、埋入後 4 週間と類似していた。組織学的解析でも埋入後 4 週間と類似した層板様構造であった。ALP 染色ではかなり弱陽性となり、TRAP 染色でも陽性細胞はほぼ認められなかった。抗スクレロスタチン抗体染色では骨細胞で陽性を示した。</p> <p>【結論】 BMP 誘導性異所性骨においても、骨細胞はスクレロスタチンを発現していた。また、軟骨細胞はスクレロスタチンを発現しないとされているが、我々の実験結果では、BMP 誘導性異所性骨における軟骨細胞は、スクレロスタチンを発現することを見出した。</p>			