

氏名(本籍) : 青沼智

学位の種類 : 博士(歯学) 学位記番号 : 歯博第539号

学位授与年月日 : 平成23年3月25日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Runx2/cbfa1 ヘテロノックアウトマウス由来骨髄間質細胞の伸展刺激応答に関する研究

論文審査委員 : (主査) 教授 山本照子
教授 笹野泰之 教授 熊本裕行

論文内容要旨

Runx2/Cbfa 1 (runt-related transcription factor 2/core binding factor α -1) は未分化間葉細胞から骨芽細胞への分化に必須な転写因子である。Runx2 遺伝子欠損のヒトでの表現型は鎖骨頭蓋異形成症として知られ、Runx2 ヘテロノックアウトマウス (Runx2^{+/-} マウス) は、鎖骨の低形成や頭蓋骨縫合部の膜性骨化不全など、鎖骨頭蓋異形成症患者と類似した特徴を備え、同症候群のモデルとして考えられている。

近年、Runx2^{+/-} マウスで、野生型マウスに比べ歯に矯正力をかけた時の歯の移動の遅延と移動量の減少が認められ、伸展側での類骨形成の減少などの骨芽細胞分化機能の低下が報告された。このことから、Runx2^{+/-} マウスは、メカニカルストレス応答への反応の低下が生じ、骨芽細胞分化促進の低下が生じている可能性が考えられる。そこで、本研究では、Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞に伸展刺激を加えた場合の骨芽細胞分化を *in vitro* で検討した。

その結果、野生型および Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞は、伸展により共に増殖能が増強したが、Runx2^{+/-} マウスは、野生型マウスと比較して増強の遅延が認められた。さらに、野生型および Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞の、骨分化誘導培地下における伸展後の Alkaline phosphatase 活性は、両マウスにおいて伸展により上昇し、Runx2^{+/-} マウス由来細胞は、野生型マウスと比較し、活性のピークの遅延と減少が認められた。また、カルシウム産生量では、両マウスで伸展により増強し、Runx2^{+/-} マウスは、野生型マウスと比較し産生量増強の遅延と減少が認められた。さらに、伸展後の Runx2 および Osteocalcin mRNA 発現でも両マウスで伸展による増強が認められたが、Runx2^{+/-} マウスは野生型に比べて発現が減少した。

以上より、Runx2^{+/-} マウスは野生型マウスと比較して、伸展力負荷時の骨髄間質細胞の細胞増殖促進の遅延が認められ、さらに骨芽細胞分化の遅延と低下が認められた。したがって、Runx2^{+/-} マウスの歯を移動したときの伸展側における、細胞増殖の遅延と骨芽細胞分化機能の低下が *in vitro* で示唆された。

審査結果要旨

Runx2/Cbfa1 (runt-related transcription factor 2/core binding factor α -1) は未分化間葉細胞から骨芽細胞への分化に必須な転写因子である。Runx2 遺伝子欠損のヒトでの表現型は鎖骨頭蓋異形成症として知られ、Runx2 ヘテロノックアウトマウス (Runx2^{+/-} マウス) は、鎖骨の低形成や頭蓋骨縫合部の膜性骨化不全など、鎖骨頭蓋異形成症患者と類似した特徴を備え、同症候群のモデルとして考えられている。近年、Runx2^{+/-} マウスで、野生型マウスに比べ歯に矯正力をかけた時の歯の移動の遅延と移動量の減少が認められ、伸展側での類骨形成の減少などの骨芽細胞分化機能の低下が報告されている。Runx2^{+/-} マウスは、メカニカルストレス応答への反応の低下が生じ、骨芽細胞分化促進の低下が生じている可能性が考えられる。そこで本研究では、Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞に伸展刺激を加えた場合の骨芽細胞分化を *in vitro* で検討している。

実験方法としては、野生型および Runx2^{+/-} マウスより骨髄間質細胞を採取し、シリコンチャンバーに播種後 12% 伸展し、DNA 増加量を測定し、細胞の増殖能を検討している。また、骨分化誘導培地下で骨髄間質細胞を伸展し、Alkaline phosphatase (ALP) 活性およびカルシウム産生量を測定し、さらに Runx2 および Osteocalcin (OSC) mRNA レベルをリアルタイム PCR で測定し、骨芽細胞分化機能を検討している。

研究結果は以下のように述べられている。野生型および Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞は、伸展により共に増殖能が増強したが、Runx2^{+/-} マウスは、野生型マウスと比較して増強の遅延が認められた。さらに、野生型および Runx2^{+/-} マウス由来骨髄間質細胞の、骨分化誘導培地下における伸展後の ALP 活性は、両マウスにおいて伸展により上昇し、Runx2^{+/-} マウス由来細胞は、野生型マウスと比較し、活性のピークの遅延と減少が認められた。また、カルシウム産生量では、両マウスで伸展により増強し、Runx2^{+/-} マウスは、野生型マウスと比較し産生量増強の遅延と減少が認められた。さらに、伸展後の Runx2 および OSC mRNA 発現でも両マウスで伸展による増強が認められたが、Runx2^{+/-} マウスは野生型に比べて発現が減少した。これらの結果から Runx2^{+/-} マウスは野生型マウスと比較して、伸展力負荷時の骨髄間質細胞の細胞増殖促進の遅延が認められ、さらに骨芽細胞分化の遅延と低下が認められた。したがって、Runx2^{+/-} マウスの歯を移動したときの伸展側における、細胞増殖の遅延と骨芽細胞分化機能の低下が *in vitro* で示唆されたと結論付けている。

本研究から得られた成果は、鎖骨頭蓋異形成症患者のモデルである Runx2^{+/-} マウスの歯の移動遅延における *in vitro* でのメカニズムを解明する上で重要な知見を示している。従って本論文は博士 (歯学) の学位授与に値するものと判断する。