

Title	骨組織の酵素組織化学的研究
Author(s)	高田, 和彰
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/29334
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【 4 】

氏名・(本籍)	高 田 和 彰 たか だ かず あき
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 1 0 6 4 号
学位授与の日付	昭 和 4 1 年 1 2 月 2 8 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	骨 組 織 の 酵 素 組 織 化 学 的 研 究
論文審査委員	(主査) 教 授 川 勝 賢 作 (副査) 教 授 寺 崎 太 郎 教 授 竹 田 義 朗

論 文 内 容 の 要 旨

骨組織の形成並びに修復機構の解明は極めて重要な研究課題であり、従来より主として病理組織学的並びに生化学的方面より研究が進められているが未だ不明の点が多い。最近、酵素の組織化学的証明法の発達に伴い、これら課題解明の一助として組織化学的研究法の応用が注目されている。しかし骨など硬組織を対称とする場合、脱灰及び切片作製などに困難な点があり、組織化学的研究を進める上には、なお技術的開発が必要である。従って、これらの方面の研究は幼弱未石灰化骨や低石灰化骨についての二、三の報告があるに過ぎず、成熟骨及び骨折などの修復時の研究は殆んど行なわれていない。

骨修復時の組織は次ぎ次ぎと化生する線維性仮骨、軟骨性仮骨並びに骨性仮骨等が混在し、母骨も存在するため、これらの組織をそれぞれの部分に分画することが困難である。従って、このような組織では組織化学的に酵素分布を知ることが重要かつ必要となってくる。

以上のことより、著者は脱灰には従来用いられていた強酸とは異なり、既に著者らが発表した EDTA 中性脱灰液を用い、切片作製法にも改良を加え、これらの難点を克服し、組織化学的に酵素分布の面より骨形成機構並びに骨修復機構を比較検討した。

研究材料としては、生後 5～7 日のラット四肢長管骨及び関節、並びに、成熟ラット脛骨骨折后 10 日の仮骨を用いた。仮骨は母骨とともに取出し脱灰を行なった。

これらをクリオスタット内で凍結切片とし、水解酵素は azo 色素法で、脱水酵素は Nitro-BT を用いてそれぞれの酵素活性の局在を証明した。酵素は従来より石灰化機構と密接な関係があるといわれている alkaline phosphatase、最近、石灰化機序との関係において注目されている acid phosphatase を始め、硬組織の重要な energy 源と考えられている glycolysis 及び citric acid cycle に関連する酵素を選んだ。すなわち水解酵素は alkaline phosphatase, acid phosphatase, β -glucuronidase と aminopeptidase,

脱水素酵素は succinate dehydrogenase と NAD dependent の malate, glutamate, β -hydroxybutyrate, α -glycerophosphate の各 dehydrogenase 並びに NADP dependent の isocitrate, glucose-6-phosphate の各 dehydrogenase 及び aconitase である。

長管骨骨端軟骨部においては、軟骨細胞の増殖肥大層に総ての脱水素酵素の強い活性が存在し、骨端軟骨部表層の軟骨細胞並びに石灰化の行なわれている骨梁端及び骨梁表面に中等度の活性が存在することが認められた。なお、骨端軟骨細胞増殖層では上述の諸酵素のうち NADP dependent の酵素活性よりも NAD dependent の酵素活性の方が強く、軟骨細胞肥大層では逆に NAD dependent の酵素活性より NADP dependent の酵素活性の方が強く、酵素分布に部位的特徴が認められた。Osteoclast は特に強い succinate dehydrogenase の活性を示すのが特徴である。これらのことより長管骨の形成、成長に重要な骨端軟骨細胞増殖肥大層には citric acid cycle 並びに pentose cycle を含めた carbohydrate の metabolism が存在し、骨形成、成長に必要な核酸と energy を供給しているものと考えられる。

骨修復組織すなわち仮骨においては、線維性仮骨より軟骨性仮骨、軟骨性仮骨より骨性仮骨への各移行部の増殖肥大細胞に alkaline phosphatase, succinate, malate, lactate, isocitrate, glucose-6-phosphate の各 dehydrogenase と aconitase の著明な活性と、中等度の acid phosphatase, β -glucuronidase, aminopeptidase と glutamate, α -glycerophosphate, β -hydroxybutyrate の各 dehydrogenase の活性を認めた。なお alkaline phosphatase は線維性仮骨部並びに軟骨性仮骨部に活性が強く、骨性仮骨へ移行するに従い活性の減弱が認められた。

Acid phosphatase は alkaline phosphatase とは異なり、骨性仮骨部並びに石灰化しつつある軟骨性仮骨部に、線維性仮骨部に比して強い活性が認められた。NAD dependent の malate, lactate の各 dehydrogenase は線維性仮骨の軟骨性仮骨への化生移行部により強く、NADP dependent の isocitrate, glucose-6-phosphate の各 dehydrogenase と aconitase は軟骨性仮骨の石灰化部及び骨性仮骨への移行部の細胞により強い活性が認められた。

すなわち酵素組織化学的に見て、長管骨骨修復機構は初期段階では結合織の修復機構に基づき、后期の骨基質形成より石灰化期では正常な骨端部の骨形成機構に従ってなされるものといえる。また修復時の組織化生部は特に高代謝部であるといえる。

論文の審査結果の要旨

骨組織の形成ならびに修復機構の解明は、極めて重要な研究課題の一つである。この問題に関しては、従来より種々研究が行なわれているが、未だ不明の点が多い。そこで最近、酵素組織化学的方面からもこの問題の検索が進められているが、硬組織を対象とする場合は、脱灰、その他の複雑且つ困難な操作が必要で十分な成果は得られていない。本研究はこのようなことより脱灰法や切片作製法などに改良を加え、骨形成ならびに修復時における骨組織の酵素組織化学的検索を進めたものである。その結果、骨形成ならびに修復時には citric acid cycle, および pentose cycle を含めた糖代謝が重要な役割を演じており、長管骨骨折修復機構の初期段階では、創傷肉芽組織に類似し、後期の骨基質形成

より石灰化期では正常の骨形成機構に従いなされていることを明らかにした。

以上本研究によって得られた結果，ならびにその改良された研究方法は，硬組織の酵素組織化学的研究に寄与するところ大であり，高田和彰君の論文は学位論文として充分価値あるものと認める。