The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 軟骨培養細胞の分化機能発現に関する研究　1. 副甲状腺ホルモンによるオルニチン脱炭酸酵素の誘導とサイクリックAMPの役割　2. 副甲状腺ホルモンとビタミンAの相互作用及び分化機能発現におけるポリアミンの役割 |
| Author(s) | 高野, 照子 |
| Citation | 大阪大学, 1981, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/33160 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

【7】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 高野照子（たかの てるこ） |
| 学位の種類 | 歯学博士 |
| 学位記番号 | 第 5418 号 |
| 学位授与の日付 | 昭和56年9月24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 | **軟骨培養細胞の分化機能発現に関する研究**<br>**1．副甲状腺ホルモンによるオルニチン脱炭酸酵素の誘導とサイクリックAMPの役割**<br>**2．副甲状腺ホルモンとビタミンAの相互作用及び分化機能発現におけるポリアミンの役割** |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 鈴木不二男<br>(副査) 教授 猪木 令三　助教授 中川 皓文　講師 平地 慶行<br>講師 山本 克彦 |

## 論文内容の要旨

胎生期より始まる高等動物の骨格の成長は骨化の基本的過程のひとつである内軟骨性骨形成によるところが大きい。しかし終極的に軟骨組織が骨組織に置きかわる過程での，軟骨細胞の分化機構，さらには骨形成機構については未だ不明な点が多く残されている。一方，近年，プトレッシン，スペルミジン，スペルミンなどのポリアミンは細胞増殖に重要な役割を果たすことが知られてきたが，最近，細胞分化にも密接な関連を有する可能性が示唆され注目を集めている。

そこで著者は，軟骨細胞の増殖，分化における代謝過程を解明する目的で，ウサギ肋軟骨培養細胞系において，ポリアミン生合成の律速酵素として特に重要とされているオルニチン脱炭酸酵素（ODC）活性に対する各種ホルモンやビタミンの影響を検討した。その結果，軟骨細胞の分化機能を亢進する副甲状腺ホルモン（PTH）がODC活性を特異的に上昇することを見出した。すなわち，PTHを添加して4時間後にODC活性が著明に上昇し，ひきつづき細胞内ポリアミンの生合成が増大した。しかも，PTHによるODC活性の上昇は，カルシウム代謝に関連する他の因子，すなわち，カルシトニン，$1\alpha,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$，ビタミンAにより全く影響されなかった。

次に，PTHによるODC活性の上昇に先行して添加2分後に，軟骨細胞内のcAMPレベルが対照の50倍以上にまで上昇し，以後すみやかに低下して30分後には対照レベルに戻ることがわかった。しかもdibutyryl cAMP（dBcAMP）もODC活性を著明に上昇し，その経時的変動はPTHによる経時的変動と一致した。さらに，PTHとdBcAMPを同時に添加しても単独の場合以上の活性上昇はみられなかった。ついで，軟骨細胞の分化機能の指標であるグリコサミノグリカン（GAG）合成能に対するPTH及びdBcAMPの影響を検討すると，添加8時間後よりGAG合成が上昇しはじめ32時間後に

ほぼ最大となり，両者によるGAG合成能の経時的変動も完全に一致した。一方，PTHあるいはdBcAMPはODC活性を上昇させるにもかかわらず，DNA合成能の亢進は認められなかった。

ところで，ビタミンAを培地に添加すると軟骨細胞は線維芽細胞様の形態に変化し，分化機能の発現も抑制されることはすでによく知られている。このような脱分化した状態の軟骨細胞では，PTHを添加しても，cAMPの上昇，ODCの誘導さらにGAG合成に至る一連の反応が全く認められなかった。しかし，ビタミンAで前処置をして分化機能を抑制した細胞でもdBcAMPを添加して細胞内cAMPレベルを上昇させるとODCの誘導が再び認められ，GAG合成能も亢進し軟骨細胞特有のpolygonalな形態に回復した。したがって，軟骨培養細胞に対するPTHの作用はcAMPを介して発現することが明らかとなった。

そこで，PTHによる分化機能の亢進にポリアミンレベルの上昇が不可欠であるか否かを検討した。ODCの強力かつ特異的な阻害剤であるDL-$\alpha$-hydrazino-$\delta$-aminovaleric acid（DL-HAVA）は，PTHによるポリアミン生合成，特にプトレッシンレベルを著明に抑制し，それとともにPTHによるGAG合成能の亢進も著しく抑制した。しかもこの系にポリアミンを添加して細胞内ポリアミンレベルを上昇させると，DL-HAVAによる阻害は消失し，GAG合成能は回復した。さらに，対数増殖期にポリアミン添加培地で軟骨細胞を培養すると，増殖への影響はほとんど認められず，分化機能のみ亢進した。

以上の実験結果より，PTHはウサギ肋軟骨培養細胞のcAMPレベルの上昇を介してODCを特異的に誘導し，ひきつづきポリアミン生合成を増大して，これにより分化機能を亢進することが明らかとなった。すなわち，PTHによるODCの誘導が軟骨細胞の分化機能発現の指標となることが分った。したがって，軟骨培養細胞のポリアミンは，従来より知られている細胞増殖においてよりもむしろ，分化機能発現すなわち軟骨細胞らしさを発揮することに重要な役割を果していることが明確に示された。

## 論文の審査結果の要旨

高野君の研究は，骨形成の過程で重要な役割を演ずる軟骨培養細胞系を用いて，その分化機能の発現とポリアミンとの関連を解析したものである。

まず，ポリアミン生合成の律速酵素であるオルニチン脱炭酸酵素（ODC）が，この細胞系では，副甲状腺ホルモン（PTH）により特異的に誘導されることを発見した。次に，この誘導は細胞内サイクリックAMPレベルの上昇を介して起り，ODCの誘導に続いて軟骨細胞の分化機能の指標であるグリコサミノグリカン合成能が細胞増殖を伴わずに上昇すること，また，PTHによる分化機能の亢進には，ポリアミン・レベルの上昇が不可欠であること，さらにビタミンAにより分化機能を失った細胞では，PTHに対する応答性を消失することを明らかにした。したがってPTHによるODCの誘導が分化機能を維持した軟骨細胞の新たな指標となりうることを提唱した。

以上のように，高野君の論文は，軟骨細胞では，ポリアミンが分化機能の発現に重要な役割を果たしているという新知見を加えた優れた業績であり，歯学博士の学位請求に十分値するものと認める。