



Title	成長肋軟骨・鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨培養細胞に対するサメ軟骨由来因子の影響
Author(s)	大前, 博昭
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/33339
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	大前博昭
学位の種類	歯学博士
学位記番号	第 6014 号
学位授与の日付	昭和 58 年 3 月 25 日
学位授与の要件	歯学研究科 歯学臨床系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	成長肋軟骨・鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨培養細胞に対する サメ軟骨由来因子の影響
論文審査委員	(主査) 教授 作田 守 (副査) 教授 鈴木不二男 講師 山本 克彦 講師 工藤 照夫

論文内容の要旨

頭蓋・顔面骨格の成長の様相を知することは、成長期の不正咬合患者を治療する上にも、また、治療がきわめて困難な骨格性不正咬合の成り立ちを究明する手掛りを得るためにも、きわめて重要である。

従来より、頭蓋・顔面骨格の成長・発育について数多くの研究が行われ、顔面骨格の成長部位として鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨の役割が議論的となってきた。そこで著者は、従来ほとんど行われたことのない細胞培養系を用いて、これらの軟骨細胞の成長の特性の究明を試みた。

一方、骨格の成長には成長ホルモンの関与が不可欠であるが、その作用は直接作用ではなく、ソマトメジンと呼ばれる一群のポリペプチドが仲介していることが知られている。また、先に行われた研究で、ウシ胎仔軟骨中に Cartilage-derived Factor (CDF) と呼ばれるソマトメジン様作用を有するポリペプチドが存在することが見出された。

本研究は、軟骨中に存在する成長因子の起源を系統発生的観点から探求するため、脊椎動物の中でも最も下等な軟骨魚類であるサメの軟骨から成長因子の抽出を試みるとともに、この成長因子の効果を、離乳期のウサギより得た成長肋軟骨・鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨の細胞培養系で検討することにより、顔面骨格の成長において、鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨がどのような特性を有するかを明らかにしようとしたものである。

乾燥サメヒレ軟骨の粉末を 1 M グアニジン塩酸で抽出したものをアセトン 45—65% で分画し、さらに CM-Sephadex C-50 カラムに展開して、サメ軟骨由来因子; Shark Cartilage Derived Factor (以下 SCDF と略す) の部分精製標品 CM-2 と CM-3 を得た。CM-2 および CM-3 は高速液体クロマトグラフィーによってさらに精製され、それぞれ 2 つずつの活性画分が存在し、他の蛋白に比べてき

わめて疎水性の強いことが明らかとなった。また、これらの活性画分は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって、CM-2の活性画分は分子量12,000~13,000と17,500に相当する位置に、また、CM-3の活性画分は分子量17,500と21,500に相当する位置に、それぞれ単一のバンドとして泳動された。

SCDFの活性の検討には部分精製標品のCM-2およびCM-3を用いた。その結果、成長助軟骨細胞の増殖に対して、SCDFはCDFあるいはソマトメジンの1つであるMultiplication Stimulating Activity（以下MSAと略す）に比べ著しく強力な促進作用を有した。しかし、軟骨細胞の分化機能発現の指標である軟骨基質合成に対するSCDFの作用を、その主成分であるプロテオグリカンの合成で検討すると、プロテオグリカン・コア蛋白の合成に対してCM-2、CM-3ともCDFとほぼ同等の促進活性を示したが、³H-グルコサミンの取り込みはCM-3の活性が高く糖鎖の伸長を亢進したものの、その硫酸化はCM-2、CM-3ともCDFほど強力な活性を示さなかった。すなわち、SCDFはソマトメジン様作用を有し、プロテオグリカン全分子の合成を促進するものの、CDFやMSAとは異った型の軟骨基質の合成を促進することが明らかとなった。

一方、鼻中隔および下顎頭軟骨細胞に対してもSCDFはソマトメジン様作用を有した。これらの軟骨細胞はSCDFによるDNA合成促進刺激に対して、成長助軟骨細胞ほど著しい応答性を示さなかった。しかし、グリコサミノグリカンの硫酸化で測定した軟骨基質合成促進刺激に対する応答性は、鼻中隔および下顎頭軟骨細胞とも成長助軟骨細胞とほぼ同程度であることが明らかとなった。また、CDFやMSAのソマトメジン様作用に対しても鼻中隔および下顎頭軟骨細胞は応答性を有したが、その程度はSCDFに対する反応の程度とほぼ同等であった。さらに、培養液中の血清濃度の低下によって、下顎頭軟骨細胞は鼻中隔軟骨あるいは成長助軟骨細胞に比べて著しくその増殖が阻害されたが、SCDFあるいはCDFの存在下では、これらの軟骨細胞と同様、良好な増殖を示した。

以上の研究結果から、哺乳動物に属するウシの軟骨中に存在する成長因子が、脊椎動物の中でも最も下等な軟骨魚類であるサメの軟骨中にも存在することが明らかとなり、系統発生学的観点から、すべての脊椎動物において軟骨は軟骨自身の成長を促進する因子をその局所で産生していることが示唆された。また、顔面骨格に存在する鼻中隔軟骨および下顎頭軟骨は、成長助軟骨に代表される骨端軟骨に比べ、軟骨としての分化機能は十分保持するが、増殖能は骨端軟骨ほど強力ではないことが示唆された。

論文の審査結果の要旨

ウシ胎仔軟骨にはソマトメジン様成長因子が存在することがすでに知られている。しかし、本研究により、脊椎動物の中で最も下等な軟骨魚類であるサメの軟骨にも、ウサギ成長助軟骨細胞の増殖とプロテオグリカン合成を促進するソマトメジン様成長因子が存在することが初めて明らかにされた。

さらに、成長期のウサギより得た鼻中隔および下顎頭軟骨細胞も、サメ軟骨より分離した成長因子

に対して応答能を発現したが、プロテオグリカン合成は成長肋軟骨細胞と同程度に促進されたものの、増殖の促進は成長肋軟骨細胞ほど著明ではないことが明らかとなった。

以上の結果は、成長因子が脊椎動物の軟骨に広く存在することを示唆する重要な知見であるとともに、顔面骨格の成長における軟骨の役割についても新たな解釈を与える価値ある業績である。よって本研究者は歯学博士の学位を得る資格があると認める。