



Title	成長期のウサギ鼻中隔、蝶後頭軟骨結合、下顎頭より分離した軟骨培養細胞の増殖、分化機能に対する圧力の影響
Author(s)	相馬, 俊一
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36090">https://hdl.handle.net/11094/36090</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</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

【5】

氏名・(本籍)	そう 相	ま 馬	しゆん 俊	いち 一
学位の種類	歯	学	博	士
学位記番号	第	8 6 2 7	号	
学位授与の日付	平成元年3月24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	成長期のウサギ鼻中隔、蝶後頭軟骨結合、下顎頭より分離した 軟骨培養細胞の増殖、分化機能に対する圧力の影響			
論文審査委員	(主査) 教授	作田	守	
	(副査) 教授	赤井三千男	教授	鈴木不二男
			講師	浦出 雅裕

論文内容の要旨

出生後の長管骨の成長は、主として骨端軟骨板で行われているが、最近、in vitro で長管骨由来軟骨について、機械的に加わる外力である圧力が増殖、分化、石灰化等に影響を与えることが報告されており、長管骨の成長に対し、外力が何等かの作用を及ぼしていると考えられるようになってきた。

一方、頭蓋の軟骨部においても筋機能力や、また顎矯正力を用いる場合においても、様々な力が作用していると考えられる。したがって、軟骨部の成長に対する機械的外力の影響を明らかにすることは、頭蓋の成長のメカニズムを明らかにする上で極めて重要であると思われる。そこで本研究では、成長期ウサギの頭蓋の軟骨より分離した軟骨培養細胞に対して、培養細胞を変性させることなく外力を作用させる方法として培養液を介して圧力をかける静水圧を用い、各々の細胞について増殖及び分化機能に対する影響を比較検討した。

実験には、体重300-400gのNew Zealand 系ウサギより分離した鼻中隔軟骨培養細胞(NSC)、蝶後頭軟骨結合軟骨培養細胞(SOS)、下顎頭軟骨培養細胞(MCC)を用いた。静水圧の作用方法は、大気中で200mlのシリンダー内にあらかじめ適当な大きさに切断した培養細胞を含むマルチウェルプレートを挿入し、ピストンで5-200g/cm<sup>2</sup>、0.5-10分間の範囲で加圧した。

10%牛胎仔血清(FCS)存在下で50g/cm<sup>2</sup>、1分間の静水圧を作用させることにより、NSC、SOSで約50%のDNA合成の上昇が認められ、経時的に20-22時間後に最大となった。しかしMCCではその促進の程度は小さかった。一方、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)合成はSOSの場合50g/cm<sup>2</sup>、2分間加圧することにより約40%、MCCの場合100g/cm<sup>2</sup>、5分間の加圧で約60%上昇し、経時的に24-27時間後に最大となった。しかしNSCでは

100 g/cm<sup>2</sup>, 1分間の圧力を作用させることによって, GAG合成はやや減少する傾向が認められた。さらに, これらのDNA合成やGAG合成に対する静水圧の促進作用は, 軟骨培養細胞がmultilayerの状態の場合には認められたが, confluent の状態で圧力を作用させた場合には認められなかった。

培地中のFCSの濃度を0.3%に下げたおき, 24時間培養後, 10%FCSを添加することにより20-22時間後にDNA合成が促進される。そこで, 静水圧が各軟骨培養細胞のFCSに対する応答性に与える影響について検討した。各軟骨培養細胞にあらかじめ50 g/cm<sup>2</sup>, 1分間の圧力を加え, 2分後に10%FCSを添加することにより, FCS添加単独群と比較して, NSCで約30%のDNA合成の促進が認められた。またこの促進作用はSOS, MCCの順で小さくなった。しかし, 添加したFCSの濃度が低い場合には静水圧によるDNA合成の促進は認められなかった。

軟骨培養細胞に副甲状腺ホルモン(PTH)を添加することにより, 24-27時間後にGAG合成が増加する。そこで, 静水圧が各軟骨培養細胞のPTHに対する応答性に与える影響について検討した。各軟骨培養細胞にあらかじめ圧力を加えて, 2分後に10<sup>-7</sup> MのPTHを添加することにより, PTH添加単独群と比較してMCCで約30%のGAG合成の促進が認められた。またこの促進作用はFCSによるDNA合成促進作用とは異なりSOS, NSCの順で小さくなった。

PTH添加による軟骨培養細胞の初期反応としては, 添加2分後に細胞内サイクリックAMP(cAMP)レベルが上昇する。そこで静水圧が各軟骨培養細胞の分化機能に与える影響を, 細胞内cAMPレベルを指標として検討した。各軟骨培養細胞にあらかじめ圧力を加えて, 2分後にPTHを添加することにより, PTH添加単独群と比較してさらに大きなcAMPレベルの上昇が認められた。またこれらのFCSやPTH添加に対する圧力の促進作用は, 圧力を作用させてからFCSやPTHを添加するまでの間隔が10分を超えるとほとんど認められなくなった。

以上の結果より, 静水圧が頭蓋由来軟骨培養細胞の増殖, 分化機能に影響を与えることが, またそれらの反応が培養細胞の種類によって異なることが明らかとなった。さらにFCSやPTHに対する応答性が, 静水圧により促進されることも明らかとなった。In vitro で得られたこれらの結果から, 頭蓋の成長・発育に機械的に加わる外力が影響を及ぼしている可能性が示唆された。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は頭蓋における軟骨部の成長に対し, 機械的に加わる外力が与える影響を明らかにすることを目的として, 成長期ウサギの鼻中隔, 蝶後頭軟骨結合, 下顎頭より分離した軟骨培養細胞を用い, 静水圧が増殖, 分化機能に与える影響を比較検討したものである。

本研究の結果, 静水圧を作用させることにより, 鼻中隔軟骨培養細胞は主として増殖能に促進的影響を受けること, それに対して下顎頭軟骨培養細胞は主として分化機能に促進的影響を受けること, 蝶後頭軟骨結合軟骨培養細胞は両者の中間的な性質を示すことが明らかとなった。また, 血清や副甲状腺ホルモンに対する応答性が, 静水圧によって促進されることが見いだされた。このように, 頭蓋由来の軟骨培養細

胞においては、外力によって増殖、分化機能が影響を受けること、またその影響は由来軟骨の部位によって異なること、さらに血清添加に対する応答性についても外力により影響を受けることが本研究により初めて明らかとなった。

以上のように、本研究は、頭蓋の軟骨成長のメカニズムを究明する上で重要な手がかりを与えたものであり、歯学博士の学位を授与するに十分値する業績であると認める。