

Title	ウサギ下顎頭軟骨, 鼻中隔軟骨, 蝶後頭軟骨結合より分離・培養した軟骨培養細胞の増殖および分化機能発現に関する研究
Author(s)	中川, 浩一
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/36500">https://hdl.handle.net/11094/36500</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"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【2】

氏名・(本籍)	中 川 浩 一
学位の種類	歯 学 博 士
学位記番号	第 8 2 7 8 号
学位授与の日付	昭和 63 年 6 月 9 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	ウサギ下顎頭軟骨, 鼻中隔軟骨, 蝶後頭軟骨結合より分離・培養した軟骨培養細胞の増殖および分化機能発現に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 作田 守 (副査) 教授 鈴木不二男 助教授 白砂 兼光 助教授 高野 吉郎

論 文 内 容 の 要 旨

頭蓋・顔面骨格の形態形成に及ぼす軟骨の影響は、胎生期の軟骨頭蓋の形成とともに始まる。特に、軟骨頭蓋から由来する蝶後頭軟骨結合、鼻中隔軟骨、さらに、二次軟骨である下顎頭軟骨の成長は、生後ほぼ成人に到るまで続くことが知られている。一方、ウサギの肋軟骨より分離した軟骨細胞培養系において、副甲状腺ホルモン (PTH) はサイクリック AMP (cAMP) レベルの上昇を介してオルニチン脱炭酸酵素 (ODC) を誘導し、その結果生合成されたポリアミンにより軟骨細胞の分化機能を亢進することが明らかにされている。さらに、グルココーチコイドの一種であるヒドロコーチゾンは、軟骨細胞の分化機能を亢進するのみならず増殖をも促進すること、また、マウス顎下腺中に見出された上皮成長因子 (EGF) も軟骨細胞の増殖を促進することが知られている。

そこで、本研究は、頭蓋・顔面骨格の成長に関わる軟骨の基本的性質を明らかにすることを目的として、ウサギの下顎頭軟骨、鼻中隔軟骨、蝶後頭軟骨結合より分離・培養した軟骨細胞培養系を用い、PTH、ヒドロコーチゾン、EGFの増殖および分化機能発現に対する影響を比較検討したものである。

実験には、体重300~400gのNew Zealand系ウサギを用い、その下顎頭軟骨、鼻中隔軟骨、蝶後頭軟骨結合の軟骨組織をトリプシン・コラゲナーゼで処理して軟骨細胞を分離・培養した。Confluentに達した下顎頭軟骨培養細胞 (MCC) は類円形を示し、鼻中隔軟骨培養細胞 (NSC) は細長い紡錘形であり、蝶後頭軟骨結合軟骨培養細胞 (SOS) は多角形の形態を示した。

MCC、NSCおよびSOSの軟骨細胞培養系にPTHを添加すると、MCCは丸い形態がさらに丸くなり、NSCは細長い紡錘形から丸みを帯びた形態に変わり、SOSでも多角形の形態から丸い形態に変化した。さらに、これらの軟骨培養細胞の細胞間に多量の基質の分泌が認められ、トルイジンブルー

染色による異染性も増強した。また、PTH添加2分後、濃度依存性にcAMPレベルの上昇が認められ、その上昇はMCCで最も高く、ついでSOSで高く、NSCでは最も低かった。さらに、PTH添加4時間後にみられるODCの誘導についても、MCCで最も強く、ついでSOSで強く、NSCでは最も弱かった。なお、PTHは濃度依存性にGAG合成能を促進し、その促進作用もまたMCCで最も強く、NSCで最も弱く、SOSでは中間であった。

MCC、NSCおよびSOSの軟骨細胞培養系にヒドロコチゾンを追加すると、MCCは丸い形態がさらに丸くなり、NSCは細長い紡錘形から丸みを帯びた形態に変わり、SOSでも多角形の形態から丸い形態に変化した。さらに、これらの軟骨培養細胞の細胞間に多量の基質の分泌が認められ、トルジンプルー染色による異染性も増強した。また、ヒドロコチゾン添加27時間後にGAG合成能が最大に促進された。その促進作用は濃度依存性であり、PTHの場合と同様に、MCCで最も強く、ついでSOSで強く、NSCでは最も弱かった。DNA合成能については、ヒドロコチゾン添加20時間後に最大に促進された。また、その促進作用も濃度依存性であり、GAG合成能とは逆の順で、NSCで最も強く、MCCで最も弱かった。

MCC、NSCおよびSOSの軟骨細胞培養系にEGFを追加すると、20時間後、濃度依存性にDNA合成能が促進された。その促進作用は、ヒドロコチゾンの促進作用と同様に、NSCで最も強く、ついでSOSで強く、MCCでは最も弱かった。さらに、EGFとヒドロコチゾンを同時に添加すると、相乗的にDNA合成が促進され、その促進効果も、NSCで最も強く、MCCで最も弱く、SOSでは中間であった。また、NSCの軟骨細胞培養系にEGFとヒドロコチゾンを同時に添加して細胞数を算定すると、EGFあるいはヒドロコチゾン単独を添加した時よりも増加が大きかった。

以上の結果より、ウサギMCCは増殖能は弱いが生分化機能を強く発現する細胞であり、一方、NSCは分化機能は弱いが増殖能を強く発現する細胞であることが明らかとなった。したがって、これら3種の軟骨培養細胞のなかではMCCが最も分化の程度が高く、NSCが最も低いことが示唆された。以上のように、頭蓋・顔面骨格より分離・培養した軟骨培養細胞には、部位により基本的性質が異なり、ホルモンや成長因子に対する増殖および分化機能発現に差異が存在することが明らかとなった。調和のとれた頭蓋・顔面の成長をもたらす重要な要因の一つとして、このようなホルモンや成長因子に対する感受性の差があるのではないかと考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、頭蓋・顔面骨格の成長に関わる軟骨の基本的性質を明らかにすることを目的として、ウサギの下顎頭軟骨、鼻中隔軟骨、蝶後頭軟骨結合より分離・培養した軟骨細胞を用い、副甲状腺ホルモン、ヒドロコチゾン、上皮成長因子の増殖および分化機能発現に対する影響を比較検討したものである。

本研究の結果、ウサギ下顎頭軟骨培養細胞は増殖能は弱いが生分化機能を強く発現する細胞であり、一

方、鼻中隔軟骨培養細胞は分化機能は弱いが増殖能を強く発現する細胞であること、また、蝶後頭軟骨結合の軟骨培養細胞は分化機能および増殖能をともに比較的強く発現する細胞であることが明確となった。このように、頭蓋・顔面骨格より分離・培養した軟骨細胞においては、部位により基本的性質が異なり、ホルモンや成長因子に対する増殖および分化機能発現に差異が存在することが本研究により初めて明らかとなった。

本研究は、頭蓋・顔面骨格の成長における軟骨の役割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。