



Title	成長軟骨細胞と関節軟骨細胞に対するPTH及びPTHrPの作用
Author(s)	出口, 明
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40087">https://hdl.handle.net/11094/40087</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。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名	出口 明
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第 13075 号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学位論文名	成長軟骨細胞と関節軟骨細胞に対する PTH 及び PTHrP の作用
論文審査委員	(主査) 教授 淵端 孟  (副査) 教授 伊集院直邦 講師 岩本 容泰 講師 村上 伸也

#### 論文内容の要旨

副甲状腺ホルモン (PTH) 及び副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP) は軟骨細胞の種々の分化機能を修飾することが知られている。PTH 及び PTHrP は胎生期成長軟骨細胞の増殖を促進するが、出生後の軟骨細胞の増殖に対しては促進あるいは作用しないと報告されており、未だ結論は得られていない。また関節軟骨細胞も成長軟骨細胞と同様に PTH/PTHrP 受容体を発現しているが、その増殖と分化に対する PTH 及び PTHrP の作用はいまだ不明である。さらに、PTH は84個、PTHrP は141個のアミノ酸からなるポリペプチドであるが、軟骨細胞に対する作用は、N 端の 1-34 のペプチドの作用であることが明らかになっている。しかしそれ以外の中間あるいは C 端断片部分にも生理活性が存在する可能性が指摘されており未だ結論は得られていない。最近、加藤、Reddi、Bruckner らのグループにより軟骨細胞の無血清培養系が開発された。無血清培養系では軟骨細胞の増殖と分化機能が良好に保持されるだけでなく、細胞の機能維持に必要な最小限の因子から構成される培地を使用する。従って、従来の血清含有培地を用いた培養系では血清成分の影響のために評価できなかった種々の可溶性因子のバイオアッセイを高感度かつ再現性よく行えると考えられる。そこで本研究では、無血清培養系を用いて、ウサギ成長軟骨細胞と関節軟骨細胞の分化に及ぼす PTH 及び PTHrP の作用を詳細に検討した。また軟骨細胞における PTH/PTHrP 受容体及び PTHrP の遺伝子発現を調べた。

最初に、培養軟骨細胞から全 RNA を調整し、RT-PCR 法により培養軟骨細胞における PTH/PTHrP 受容体及び PTHrP の遺伝子発現の有無を調べた。その結果、培養成長軟骨細胞及び培養関節軟骨細胞に PTH/PTHrP 受容体及び PTHrP の遺伝子が発現していることが判明した。

次に PTH 及び PTHrP の軟骨細胞に対する作用を血清含有培養系と無血清培養系を用いて検討した。得られた結果は以下の通りである。

1) 従来の血清含有培養系では、PTH 及び PTHrP はともに成長軟骨細胞および関節軟骨細胞の DNA 合成に対してほとんど作用しなかった。しかし無血清培養系では PTH 及び PTHrP は関節軟骨細胞の DNA 合成を促進した。また成長軟骨細胞の DNA 合成も若干促進した。

2) PTH 及び PTHrP は両培養系において成長軟骨細胞のプロテオグリカン (PG) 合成を強力に促進した。また、関節軟骨細胞の PG 合成をやや促進した。

3) 持続的に PTH 及び PTHrP を軟骨細胞培養系に添加すると DNA 量及び PG 量が有意に増加した。

4) PTHrP の N 端を含まない中間あるいは C 端の断片は、成長軟骨細胞、関節軟骨細胞の DNA 合成、PG 合成に影響しなかった。

本研究においては、PTH 及び PTHrP は胎生期のみならず出生後の軟骨細胞の増殖も促進することが判明した。この作用は、関節軟骨細胞で顕著であった。また、PTH 及び PTHrP は軟骨基質合成も促進したが、この促進効果は成長軟骨細胞でより顕著に認められた。また PTH 及び PTHrP の軟骨細胞に対する増殖、基質産生促進作用は PTH 及び PTHrP の N 端を含む断片の作用であることが判明した。成長軟骨細胞と関節軟骨細胞の PTH 及び PTHrP に対する応答性が異なる機構は不明であるが、成長軟骨細胞の PTH/PTHrP 受容体発現レベルは関節軟骨細胞のそれより約 5-8 倍高いことがすでに報告されている。従って、応答性の差はそれらの細胞の PTH/PTHrP 受容体の発現レベルの違いに起因するのかも知れない。

一方、PTH/PTHrP 受容体遺伝子及び PTHrP 遺伝子の発現が出生後の軟骨細胞に認められたことより、PTH 及び PTHrP は出生後の軟骨細胞の代謝調節に関与することが示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本研究は、無血清軟骨細胞培養系を用いて、4 週齢ウサギより分離した成長軟骨細胞と関節軟骨細胞の増殖、分化に対する副甲状腺ホルモン (PTH) と副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP) の作用を検討するとともに、軟骨細胞における PTHrP の発現を分子生物学的に検討したものである。

その結果、PTH 及び PTHrP が出生後の成長軟骨細胞及び関節軟骨細胞の代謝調節に重要な役割を果たすことが示唆された。

以上のように、本論文は、生後の個体の軟骨細胞における PTH 及び PTHrP の生理的役割を明らかにした優れた業績であり、博士 (歯学) の学位請求に十分値するものと認める。