Osaka University Knowledge Archive

Title	骨芽細胞の増殖と分化に及ぼすX線照射の影響
Author(s)	松村, 聡子
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40096
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【11】

氏　　名	松　村　聡　子（まつ むら さと こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　13077　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	**骨芽細胞の増殖と分化に及ぼすX線照射の影響**
論文審査委員	（主査） 教　授　渕端　孟 （副査） 教　授　雫石　聰　　助教授　古郷　幹彦　　講　師　岩本　資己

論文内容の要旨

【緒言】

若年者に放射線治療を行った場合，照射野に含まれる骨が後に形成不全を起こすことは以前より報告されている。高線量の放射線は膜性骨化で主要な役割を果す骨芽細胞の機能を障害すると考えられ，現在までは放射線照射した動物の骨組織の組織学的検討が行われてきた。しかし，照射を受けた骨周囲の細胞からの二次的な影響を排除できず，骨芽細胞そのものに対する放射線照射の影響は明かではなかった。そこで，本研究では培養骨芽細胞を用いて異なった分化段階の骨芽細胞の機能に及ぼすX線照射の直接的な影響を検討した。

【方法】

骨芽細胞として骨芽細胞様細胞株MC3T3－E1及び胎生21日目のラット胎仔頭蓋冠より酵素処置にて分離した初代骨芽細胞を用いた。各細胞は5×10^3／個㎠で播種し50μg/mlのアスコルビン酸，5mMのβグリセロリン酸及び10%牛胎仔血清を含むαMEM培地にて培養した。

X線照射は，日立実験用小動物X線照射装置MBR－1505を用い，線量率25cGy／min，130kV，3mAにて1－10GyのX線を一回照射した。

【結果】

1．骨芽細胞は培養4日目にコンフルエントに達した後，培養15日目ころよりnoduleを形成し始め培養30日目にはnodule部分に石灰化を誘導した。そこで，対数増殖期，コンフルエント時あるいは基質形成期に10GyのX線を照射した。対数増殖期に照射した群の細胞は長い紡錘形を呈していたが，コンフルエント時に照射した群では形態変化の程度は低下し，基質形成期に照射した群では非照射群とほとんど差はなかった。

2．骨芽細胞の増殖能は分化と共に低下したが，X線照射が増殖を抑制する程度は分化に伴って減少した。また，非照射群のDNA含量は経時的に増加したが，X線照射はこの増加を抑制した。

3．膜性骨化には骨芽細胞が分泌した細胞外基質への石灰化誘導が必須である。骨芽細胞のウェル当たりのカルシウム含量はX線照射により低下したがDNA量当たりのカルシウム含量は非照射群の120－240%であり，X線照射が骨芽細胞の石灰化を亢進することが明らかとなった。

4．照射による石灰化亢進のメカニズムを調べるため，石灰化関連因子であるALPase活性，Ⅰ型コラーゲン及び非コラーゲン性蛋白をMC3T3－E1細胞を用いて検討した。コンフルエント時以降の照射はALPase活性を増加させ培養12－16日目ころに最大となり非照射群の約2－6倍であった。また，ALPase染色によりnodule部分のみALPase活性が強いことが明らかとなった。さらに，Ⅰ型コラーゲンの合成及び蓄積量はX線照射によって増加した。また，X線照射はオステオネクチン及びオステオポンチンmRNA発現には影響を与えなかったが，オステオカルシンmRNA発現を抑制した。

【考察】

本研究では，X線照射は石灰化に関連したALPase活性化の上昇とⅠ型コラーゲン量の増加を介して，骨芽細胞の細胞当たりの石灰化を亢進することが判明した。しかし，照射群においてnoduleとnoduleの間にアリザリン染色やALPase染色に染まらない紡錘形を呈した細胞が存在することから，全体としてはX線照射の増殖に対する影響が大きいため総石灰化量は低下するが，一部の細胞は分化が促進し一部の細胞は分化が抑制することが判明した。ところで，非照射群においてもnoduleを形成する細胞群とnodule間のnodule形成に関与しない細胞群とに分かれる。従って，培養系の細胞間に元来存在するわずかな違いによって放射線照射を受けた骨芽細胞が各々最終的に違った分化形質を発現すると考えられた。

骨芽細胞の石灰化は骨基質蛋白，細胞と基質の接着に関する情報など様々な因子により制御されている。これらの中でもALPase活性，Ⅰ型コラーゲンは石灰化に密接に関与しており，本実験系においてもコンフルエント時以降のX線照射による結果と一致した。さらに，骨芽細胞の分化形質の一つであるオステオカルシンは石灰化を抑制することも考え合わせると，X線照射後の石灰化亢進には，照射によるALPase活性及びⅠ型コラーゲン産生の上昇のみならず，オステオカルシン発現の抑制が深く関与していると考えられた。

今回の研究により，X線照射は個々の骨芽細胞が産生する石灰化量は増加させるものの，細胞数が減少するため全体としての石灰化基質の量は減少することが判明した。これはX線照射が膜性骨化に対して抑制的に働くことを示すものであり，臨床的に若年者への放射線照射が骨格の発育成長を障害することと一致する。本研究によってこの骨形成を障害するメカニズムのひとつとして，X線照射による骨芽細胞の増殖抑制作用と石灰化量の低下は照射後の骨形成異常に直接関与することが明かとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は培養骨芽細胞を用い異なった分化段階の骨芽細胞の機能に及ぼすX線照射の影響を検討したものである。

その結果，X線照射は石灰化に関連したアルカリホスファターゼ活性の上昇，Ⅰ型コラーゲン量の増加及びオステオカルシン発現の抑制を介して，骨芽細胞の細胞当たりの石灰化を亢進するが，一方で細胞数を減少させ全体としての細胞外基質石灰化を阻害することが明らかとなった。

以上の知見は放射線治療後の骨形成障害のメカニズムの解明に新たな知見を与えるものであり，博士（歯学）の学位請求に十分値するものと認める。