

学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	楊 孟雨		
学位論文名	Analysis of the Effect of Parathyroid Hormone (PTH) Treatment on Osteoblastogenesis from Leptin Receptor-Positive Mesenchymal Stem Cells (副甲状腺ホルモンによる Leptin 受容体陽性間葉系幹細胞の骨芽細胞分化機構の解析)		
論文審査委員	主査:	松本歯科大学 教授	川上 敏行
	副査:	松本歯科大学 教授	八上 公利
	副査:	松本歯科大学 講師	荒 敏昭
	副査:		
	副査:		
	副査:		
最終試験	実施年月日	2018 年 12 月 19 日	
	試験方法	<input type="checkbox"/> 口答 ・ <input type="checkbox"/> 筆答	
学位論文の要旨			
<p>【目的】 骨髄間葉系幹細胞 (BM-MSC) は自己複製能を有し、生涯にわたり骨芽細胞の供給源として機能する。先行論文において、BM-MSC をレプチン受容体陽性 (LepR⁺) 細胞として同定し、報告した (2014, Dev Cell)。しかしながら、生体内における LepR⁺細胞の骨芽細胞への分化過程については未だ十分な理解が得られていない。本論文では、転写因子 Runx2 の GFP レポーターマウスを用いて LepR⁺細胞の骨芽細胞分化過程を解析すると共に、骨形成誘導薬である副甲状腺ホルモン (PTH) (1-34) の間歇的投与による骨芽細胞と脂肪細胞の分化に対する効果を in vivo において検討した。</p> <p>【結果と考察】 転写因子 Runx2 の GFP レポーターマウスを用いて LepR⁺細胞の骨芽細胞分化過程を解析した結果、LepR⁺細胞の約 60% が低レベルの Runx2-GFP (Runx2 low) を発現していることが示された。一方、興味深いことに LepR⁺細胞画分において、Runx2 low の亜集団は Runx2-GFP 陰性 (Runx2⁻) の亜集団よりも高い幹細胞能を有することが CFU-F (colony-forming unit fibroblasts) およびスフェロイド (細胞塊) アッセイにより明らかになった。また、LepR⁺Runx2 low 細胞は in vitro 培養系で多分化能を示した。さらに LepR⁺Runx2 low 細胞は、骨形成誘導薬である副甲状腺ホルモン (PTH) (1-34) の投与にともない Runx2、Osterix (Osx)、タイプ I コラーゲン (Col1) の発現量が順次上昇し、成熟骨芽細胞に分化することが in vivo で示された。PTH (1-34) 投与後の骨組織近辺では、層状に重なり合った LepR⁺細胞 (Multilayered cells) が認められた。すなわち、LepR⁺Runx2 low 細胞は Multilayered cells の形成を経て骨芽細胞に分化することが示唆された。以上の結果より、LepR⁺細胞はヘテロな集団であり、その Runx2 low の亜集団に BM-MSC が含まれることが示された。同時にこの結果は、骨芽細胞分化のマスター遺伝子である Runx2 が未分化状態でも低発現していることを意味する。さらに、PTH (1-34) の間歇投与は、LepR⁺細胞において骨芽細胞のマーカーであるオステリックスおよび I 型コラーゲンの発現レベルを増加した。一方、脂肪細胞のマーカー</p>			

(様式第 13 号)

である Cebpb、PPAR γ 、および Zfp467 の発現レベルは、この集団で減少させた。これらの結果と一致して、5-フルオロウラシル誘発性の骨髄内の脂肪生成は、PTH 投与によって阻害された。また、卵巣摘出ラットに対する PTH 投与は、骨粗鬆症性骨組織だけでなく、骨髄脂肪組織においても改善作用を示した。

【結論

PTH の骨アナボリック効果は、LepR⁺Runx2 low 細胞の骨芽細胞分化誘導作用を介することが示された。PTH は、脂肪細胞から骨芽細胞への系統分化を促進することが明らかとなった。

なお、本論文の一部は Scientific Reports 誌 (7 巻 4928, 2017) にて公表済みである。

学位論文審査結果の要旨

本研究は、転写因子 Runx2 の GFP レポーターマウスを用いて LepR⁺細胞の骨芽細胞分化過程を解析したものである。その結果、LepR⁺細胞はヘテロな集団であり、Runx2 の低発現の亜集団が高い幹細胞能を有することが示された。また、骨芽細胞分化のマスター遺伝子である Runx2 が未分化状態でも低発現していることを意味し、さらに、PTH の骨アナボリック効果は、LepR⁺細胞の骨芽細胞分化誘導作用と脂肪細胞分化抑制作用を介することを示していた。その結果は LepR⁺細胞の骨芽細胞分化過程を追究したもので、極めて興味深いばかりでなく重要な新知見を多く含んでいる論文である。

なお、学位論文の要旨の項にも記した様に、本論文の前半部分に関しては、Scientific Reports 誌 (7 巻 4928, 2017) にて公表済みである事を含めて審査した。結論として、本論文は本学大学院歯学独立研究科硬組織疾患制御再建学専攻の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、将来的に臨床分野への応用につながる可能性を含んだ極めて有意義なものである。以上のことから、この論文は学術的に高度な新知見を含んでおり、博士 (歯学) の学位授与に値するものであると判断した。

最終試験結果の要旨

学位申請論文を中心に口頭による試験を行った。主要な質問事項 (順不同) は次のとおりである。

1. 本学位論文 (テーシス) の最終的な結論 (総括) を述べなさい。
2. 実験において種の違う動物 (マウスおよびラット) を使用した理由について説明しなさい。
3. 投与した PTH を PTH (1-34) にした理由について説明しなさい。
4. 本実験における quantitative real-time PCR の条件設定について簡潔に説明しなさい。
5. 学位論文をテーシスとしてまとめる際の体裁を改善させなさい。

以上の各項目に対して、申請者は適切な回答ならびに適切な改定を行った。また、申請者は、実験より得られた結果に対して適切な考察が行える専門的知識があり、博士課程修了者として十分な知識と学力を有しているものと判断された。本審査委員会の最終結論として、申請者に対する博士 (歯学) の最終試験を全員一致にて合格とすることとした。

判 定 結 果

合格

不合格

備考

- 1 学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を () を付して記入すること。
- 2 学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を () を付して記入すること。
- 3 論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。