

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (工学)	氏名	青 沼 有 紀
論文題目	骨細胞の力学刺激感知およびカルシウム応答伝播のバイオメカニクス		
(論文内容の要旨)			
<p>本論文は、骨基質中に存在する骨細胞の力学刺激感知・伝達特性に着目し、骨のリモデリングによる力学的適応現象における骨細胞の力学刺激応答特性、および、細胞間ネットワーク構造の役割を明らかにすることを目指して、骨細胞の力学刺激に対する初期応答としてのカルシウム応答挙動を実験的に検討したものであり、5章からなっている。</p> <p>第1章は緒論であり、研究背景および本論文の目的を述べている。まず、骨のリモデリングによる力学的適応現象、および、骨リモデリングにおける骨系細胞の骨代謝活動について概説し、骨細胞の役割についてこれまでに得られた知見を述べている。その中で、骨細胞の力学刺激に対する応答特性の検討が、骨リモデリングによる力学的適応メカニズムの解明において重要であることを指摘するとともに、その医工学的意義を述べている。また、細胞に対する力学刺激が生化学シグナルに変換されるメカノトランスダクション機構の検討方法として、細胞内カルシウムイオンの濃度変化(カルシウム応答)の測定の有効性を述べた上で、本論文の目的を述べている。</p> <p>第2章では、骨組織内骨細胞の力学応答特性を検討するために、骨組織に対する変形の付与と、それに対する組織内骨細胞の生化学的応答の経時的観察を可能とする<i>ex vivo</i>実験系を確立し、骨組織と骨細胞の変形計測、および、それにとまなう組織内骨細胞のカルシウム応答を観察している。本章で確立された実験系は、ニワトリ胚頭蓋冠より作製した骨組織試料に対し、2本のマイクロニードルを用いて面内せん断変形を付与することにより、骨基質内の骨細胞への力学刺激付与実験を実現するものである。また、骨基質への変形付与と、カルシウムイオン蛍光指示薬を導入した骨細胞の経時観察を行うことにより、骨組織への変形付与にとまなう骨組織内骨細胞の変形、および、カルシウム応答の発生を初めて観察した。この結果より、組織内骨細胞において、骨組織への力学的負荷に対する力学刺激感知機構が機能していることを確認している。</p> <p>第3章では、骨組織内骨細胞の力学刺激感知特性に関して、骨細胞が骨への力学的負荷を刺激として感知するメカニズムを検討している。特に、組織内骨細胞の力学刺激感知特性において骨細胞の細胞形状が果たす役割に着目し、骨細胞の局所部位における力学刺激感知特性を検討している。ニワトリ胚頭蓋冠より単離した単一の骨細胞に対して定量的に制御した力学刺激を付与し、細胞応答としてのカルシウム応答を観察することにより、骨細胞の局所的な力学刺激感知特性を検討した。その結果、力学刺激の付与に対し、カルシウム応答が力学刺激の付与部位の近傍から発生し、その後、細胞内全体に広がる様子が観察された。また、細胞突起においては、細胞体に比べて、高い確率、かつ、より小さい刺激量によってカルシウム応答が発生した。このことは、骨細胞の細胞突起における鋭敏な力学刺激感知特性を示すものであり、骨細胞の力学刺激応答メカニズムにおける細胞形状と内部の細胞骨格構造の寄与を示している。</p>			

氏名	青 沼 有 紀
----	---------

第4章では、力学刺激の付与に対する骨細胞の応答が、周囲の細胞に伝達される現象に関して、骨細胞が形成する細胞間ネットワークを介した細胞間コミュニケーションの機能を検討している。ニワトリ胚頭蓋冠より単離・培養した骨細胞を含む骨系細胞にマイクロニードルを用いて力学刺激を付与し、発生したカルシウム応答が周囲の細胞に伝播する様子を観察している。その結果、骨組織中に存在する骨細胞と、骨組織表面層において骨代謝に関わる骨表面細胞間に発生するカルシウム応答の伝播は、力学刺激を付与する細胞種を問わず、骨表面細胞に対して高い確率で発生した。異なる細胞種間のカルシウム応答の伝播に着目すると、骨細胞に力学刺激を付与し、発生したカルシウム応答が骨表面細胞に伝播する確率は、骨表面細胞に力学刺激を付与し、発生したカルシウム応答が骨細胞に伝播する確率に比して有意に高い結果が得られた。これらの結果は、骨系細胞間の細胞応答の伝播現象が、骨細胞から骨表面細胞に対して、すなわち、骨組織の内部から骨組織表面層に向かって一方向的におこなわれている可能性を示しており、骨リモデリングにおける骨細胞の指向性のある力学刺激伝達特性の存在を示唆している。

第5章は結論であり、本論文で得られた骨細胞の力学刺激に対する応答特性に関する知見を要約している。本論文におけるバイオメカニクス的手法を用いた骨細胞の力学刺激感知・伝達特性の実験的検討が、骨のリモデリングによる力学的適応過程における、骨細胞の骨代謝調節メカニズムに関する新たな知見を与えるものであるとともに、生体を形成する階層構造を考慮したシステムバイオメカニクスの基礎的知見につながるものとして期待できると述べている。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、骨組織内部に存在する骨細胞の力学刺激の感知・伝播特性に着目し、骨細胞の力学刺激応答特性、および、細胞間ネットワーク構造が、骨のリモデリングにともなう力学的適応現象に果たす役割を明らかにすることを目指して、骨細胞の力学刺激に対する初期応答としてのカルシウム応答挙動を実験的に検証したものである。得られた主な成果は以下の通りである。

1. 骨組織に対する変形の付与と、それに対する組織内骨細胞の生化学的応答の経時的観察を可能とする *ex vivo* 実験系を用いて、骨組織への変形付与に対する組織内骨細胞のカルシウム応答を観察した。その結果、骨組織への力学的負荷に対して、組織内骨細胞における力学刺激感知機構が機能していることを確認した。
2. 単一骨細胞における細胞形状と力学刺激感知特性の関連を検討するため、骨細胞に対して局所的に力学刺激を付与する *in vitro* 実験系を確立した。骨細胞の局所部位に対して力学刺激を付与し、それに対するカルシウム応答を観察することにより、骨細胞の力学刺激感知特性が細胞突起部位において鋭敏であることを明らかにした。
3. 骨系細胞が感知した力学刺激の他の骨系細胞に対する伝播特性について、骨細胞と骨表面に存在する骨系細胞間のカルシウム応答の伝播を観察することにより検討した。その結果、骨細胞から骨表面細胞への一方向的な伝播特性が存在することを明らかにした。

以上、本論文は、骨細胞の力学刺激感知・カルシウム応答伝播特性について、骨組織内骨細胞が骨代謝機能を発現させるためのメカノトランスダクション機構、ならびに、骨系細胞に対する刺激情報の伝達機構に関する新たな知見を提供するものである。よって、本論文は博士(工学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成21年12月24日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。