

氏 名	まつ 松 岡 秀 明
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2093 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Osteoclastic resorption of bone-like apatite formed on a plastic disk as an <i>in vitro</i> assay system (プラスチック円盤上に形成された骨類似アパタイトを用いた破骨細胞のアッセイ系に関する研究) (主査) 論文調査委員 教授 飯塚忠彦 教授 開 祐 示 教授 中村孝志

論 文 内 容 の 要 旨

現在、破骨細胞の活動性の指標である吸収活性を評価する際には、主として骨または象牙が用いられている。これら天然の材料は、加工方法、成分および構造の個体差、吸収活性の判定方法等によって結果が影響を受けるといった欠点があり、また自然保護運動の動き等もあって最近では入手困難である。そこで、均一な材料を大量生産することのできる人工材料を用いた破骨細胞のアッセイ系の開発は大きな意味を持つ。この研究では、骨に近い性質を有する人工のアパタイトを用いて破骨細胞の簡単なアッセイ系を開発することを目的とした。さらに、鯨dentineおよび焼結したアパタイトを用いた破骨細胞のアッセイ系との比較検討を行った。

細胞外液に近似した無機イオン濃度構成を有する擬似体液を用いて、apatiteおよびwollastoniteを含むガラスセラミック(A-W GC)円盤の表面にアパタイト層を作成した。このアパタイト層は擬似体液中で1日に約 $0.7\mu\text{m}$ の割合で均一に成長し、骨類似の化学組成および構造を有していた。このうち一部を900度まで加熱し結晶性を変化させた。10日齢日本白色家兔の四肢長管骨から破骨細胞を含む全骨細胞を得た。これをA-W GC円盤上に作成した骨類似アパタイト、加熱したアパタイトおよび鯨dentine上で培養し、破骨細胞の形態および吸収窩を走査電子顕微鏡(SEM)を用いて観察し、吸収面積を画像解析装置を用いて測定した。

A-W GC円盤上に作成したアパタイト層は加熱温度に比例して結晶性が高くなり、破骨細胞により形成された吸収窩の形態および面積はdentineのものと著しく異なっていた。これに対し、骨類似アパタイト上に形成された破骨細胞の吸収窩はdentine上の吸収窩と形態的に類似していた。しかし、破骨細胞・吸収窩の観察および吸収面積の測定にはSEMを用いる必要があった。また、 $2.1\mu\text{m}$ 以上の厚みを有するアパタイト層は吸収面に著しい凹凸があり、吸収容積の測定は困難であったが、 $1.4\mu\text{m}$ 以下の厚みのアパタイト層では吸収容積と面積はほぼ比例した。

次に、 $\text{MgO-CaO-SiO}_2\text{-P}_2\text{O}_5\text{-CaF}_2$ 系のガラス粉末を用いて、polyethyleneterephthalate (PET)円盤上にシラノール基(SiOH)を形成させた後に、擬似体液を用いて表面に $1\mu\text{m}$ の厚みの骨類似アパタイト層を作成した。この表面で破骨細胞を培養したところ吸収部分と未吸収部分の境界が明瞭であることがSEMによって示された。また、骨類似アパタイトの基板が透明になったことによって培養中の破骨細胞および吸収窩の観察が位相差顕微鏡で可能となった。培養後の未吸収部分のアパタイトを渡銀染色し画像解析することで吸収面積の測定も容易であった。吸収面積は経時的に増加し、培養4日目の破骨細胞の吸収面積は鯨dentineと比較すると有意差はなかった。

以上の実験結果により、骨類似の性質を有するアパタイト層をPET上に $1\mu\text{m}$ の厚みに均一に作成することによって、培養中の破骨細胞および吸収窩の観察が可能であり、破骨細胞の吸収活性の測定も容易であるアッセイ系を開発した。またこのアッセイ系は、兎の破骨細胞を含む全骨細胞を用いた培養系によって天然の材料に近い吸収率を呈し、有効であることを示した。

論文審査の結果の要旨

現在までに破骨細胞の吸収活性を評価するために骨・象牙等が用いられてきた。本研究では骨の無機質成分に類似した性質を有する人工のアパタイトを用いて均一で大量生産が可能な破骨細胞のアッセイ系を開発した。

生体活性ガラスセラミック *apatite-and wollastonite-containing glass ceramic* の表面に、細胞外液に近似した無機イオン濃度を有する擬似体液を用いて骨類似の成分・結晶構造を有するアパタイトを形成させ、この表面で破骨細胞を培養したところ象牙上に形成される吸収窩に類似した形態の吸収窩が形成され、アパタイト層の厚みが $1.4\mu\text{m}$ 以下であれば、吸収面積と容積がほぼ比例していた。加熱処理によって骨類似アパタイトの結晶構造を変化させたところ、破骨細胞による吸収窩は形態・面積ともに象牙上のものと著しく異なっていた。

次に、透明な *polyethyleneterephthalate* の表面に骨類似アパタイト層を $1.0\mu\text{m}$ の厚みで形成させ、この表面で破骨細胞を培養したところ破骨細胞および吸収窩が培養中に位相差顕微鏡で観察可能であった。また、培養後に未吸収部分を染色し画像解析することで吸収活性の測定が容易となり、吸収面積を象牙と比較すると有意差はなかった。

以上の研究は、破骨細胞の骨吸収のメカニズムの解明に貢献し、動物愛護にも寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年2月8日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。