

学位論文審査の要旨

河合治は本研究において11名の若年者、12名の高年者から採取した歯肉より分離・培養した歯肉線維芽細胞(HGF)を用いて、加齢による細胞応答性の変化をインターロイキン6(IL-6)産生およびプロスタグランジンE₂(PGE₂)産生を指標として検討した。まず、被験者の歯肉から分離したHGFを7代継代培養した。7代継代細胞をリポ多糖(LPS)あるいはインターロイキン1β(IL-1β)で刺激して細胞増殖の変化およびIL-6産生量の変化を測定した。LPSあるいはIL-1βで刺激しても若年者および高年者とも細胞増殖の速度に大きな変化は認められなかった。また、若年者の方が、細胞数がプラトーに達するまでの時間は短かった。高年者については、LPS刺激群IL-1β刺激群いずれの細胞においても、IL-6産生量は増加したが、IL-1β刺激群の細胞では有意に高い産生量を示した。この結果を踏まえて、刺激剤として細胞応答性の良いIL-1βのみを選択し継代培養によるIL-6およびPGE₂産生量の変化を検討した。若年者の細胞では継代培養によりPGE₂、IL-6産生量が減少し、PGE₂産生阻害剤であるインドメタシン添加によりPGE₂、IL-6産

生は阻害された。この結果から、若年者の細胞においては細胞自身が産生するPGE₂によりIL-6産生がUp-regulateされている可能性が示唆された。一方、高年者の細胞ではIL-6産生に関するPGE₂の関与は、明瞭ではなかった。これは、高年者群の7代継代細胞では、インドメタシン添加によってPGE₂産生が阻害されたにも関わらずIL-6産生が阻害されない細胞が一部に認められたことによると考えられる。本研究では、IL-1β刺激後のHGFからのPGE₂産生は継代培養により減少し、高年者では若年者に比べて低い産生量を示したことから、加齢によりPGE₂産生は低下することが示唆された。しかし、IL-1β刺激後のHGFからのIL-6産生に関しては、細胞毎で調節機構が異なるため、加齢により一定の変化が認められない可能性も考えられた。また、歯周炎の発症と進行における加齢の関係の一端を明らかにすることができたと考えられた。本研究によって得られた結果は歯周病学や関連諸学科の進歩発展に寄与するところが大きく、審査の結果、本論文は学位授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	志手典之(大阪府)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	乙第44号
学位授与の日付	平成11年9月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(論文博士)
学位論文題目	卵巣摘出成熟ラットにおける下顎骨および胫骨に及ぼす走行運動の影響
論文審査委員	主査 教授 矢嶋俊彦 副査 教授 武田正子 副査 教授 平井敏博

論文内容の要旨

I. 緒言

閉経後骨粗鬆症は、骨形成・骨吸収ともに亢進する高回転型骨代謝を示すことが知られている。これは閉経に

ともなうエストロゲン欠乏が引き金となり、骨吸収が骨形成を上回り、結果として骨量減少を引き起こす。それに対し、運動による加重負荷や筋収縮は、骨量・骨密度の減少を抑制し、骨粗鬆症を予防する効果があると報告

されており、運動の習慣化が重要であると示唆されている。走行運動による骨量減少の抑制効果は運動負荷が直接作用する下肢骨などで数多く報告されているが、走行運動による運動負荷が直接作用しない下顎骨にまで言及した報告はない。さらに、その運動による骨量減少の抑制効果を周囲の筋組織との関連から検討した報告も数少ない。

本研究は、成熟雌ラットに卵巣摘出手術を施した骨粗鬆症モデルを用いて、定期的な中強度の走行運動が及ぼす影響を検討した。血漿中の酵素とホルモンの生化学的検討から全身的な影響を、また下顎骨と胫骨および咬筋と腓腹筋の組織学的検討から局所的な影響を解析した。

II. 材料および方法

24週齢のWistar系雌ラット17匹を用いた。1週間の予備飼育後、12匹に卵巣摘出手術(OVX群)を、残り5匹に偽手術(sc群)を施した。術後1週間の回復期をおき、OVX群をさらに対照(OC, 6匹)群と運動(OE, 6匹)群の2群に分けた。OE群における運動負荷には小動物用トレッドミルを用い、1日1回、1日おきに8週間の走行運動を行った。走行運動は、運動開始後2週間傾斜角をつけず、15-22.5m/分の速度で15-30分とした。さらに3週以降は5度の傾斜をつけ、1回の走行時間を30分とし、走行速度を3-5週まで22.5m/分、6-8週まで25m/分とした。

運動開始8週後、ネプタール麻酔下で、右側の咬筋(浅層)と腓腹筋を摘出、筋重量を秤量し、凍結保存した。採血後、4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、両側の下顎骨および胫骨を摘出した。

血漿分離後、アルカリ性ホスファターゼ(ALP)と酒石酸耐性酸性ホスファターゼ(TRAP)の各酵素活性を直ちに測定し、また血漿中の 17β -estradiolとprogesteroneの両ホルモン濃度も測定した。

右側の下顎骨と胫骨は、エタノールで脱脂・脱水後、乾燥骨重量を秤量した。胫骨はDXA法(QDR-1000w)によって骨密度を測定した。また、下顎骨を軟X線撮影装置で撮影し、画像解析装置で下顎頸部骨髓腔の面積比率を算出した。一方、左側の下顎骨関節突起部と胫骨近心端部は10%EDTA脱灰後、通法通りパラフィン切片を作成、HE染色を施した。

咬筋と腓腹筋(外側頭)の筋腹部の凍結切片を用い、個々の筋線維の収縮特性と酸化能力を検討するために、Myosin ATPase (pH 10.3)とDPNH-diaphorase染色を施した。筋線維をSlow twitch・Oxidative(SO), Fast twitch・Oxidative・Glycolytic (FOG), Fast twitch・Glycolytic (FG)線維に分類し、筋線維構成比を算出す

るとともに、画像解析装置で筋線維横断面積を測定した。統計学的検定にはNeuman-Keuls testを用いた。

III. 結 果

1. 体重・筋重量(咬筋, 腓腹筋)・骨重量(下顎骨, 胫骨)は、3群間に有意な差を認めなかった。
2. 卵巣摘出術を施されたOC群では、SC群に比べてALP活性は有意に低下し、TRAP活性は有意に上昇した。一方、OE群における走行運動はOC群でみられた低ALP活性を有意に上昇させ、高TRAP活性を有意に低下させた。
3. 17β -estradiol濃度はSC群に対し卵巣摘出術を施したOC群とOE群で有意に低値を示した。
4. Progesterone濃度はOE群でSC群とOC群より有意な上昇を示した。
5. 胫骨近心骨幹端部における骨密度はOC群で他の3群より有意に低下し、その海綿骨骨梁の著しい減少が組織学的にも認められた。一方、OE群における走行運動はOC群での骨密度減少を抑制し、骨梁減少も観察されなかった。
6. 下顎頭の組織像には3群の間に差がなかった。しかし、下顎骨頸部の骨髓腔はOC群で拡大し、その面積比率もSC群より有意に高かった。さらに、OE群における走行運動はOC群での骨髓腔拡大を有意に抑制し、SC群と差がなかった。
7. 筋線維構成比の変化は腓腹筋で認められたが、咬筋では認められなかった。OE群における走行運動は、腓腹筋深層部でSC群とOC群に対してFOG線維を有意に増加させ、またFG線維を有意に減少させた。さらに、その筋線維横断面積では、OE群におけるFOG線維の肥大する傾向が認められ、SC群に対し有意に高い横断面積を示した。

IV. 考察および結論

1. OVXラットに対する走行運動は、血漿ALP活性をSC群とほぼ同じレベルに維持させ、特にTRAP活性を著しく低下させた。これは走行運動による骨形成の維持と骨吸収の抑制を示し、その運動はOC群における骨代謝の不均衡を改善したと考えられる。
2. 女性にとって重要なホルモンであり、またストレスに呼応するProgesteroneは、OE群において有意に上昇した。このことは、Progesterone受容体の存在が認められてる破骨細胞に対し抑制的に作用し、骨量減少抑制の一因となったと思われる。
3. 走行運動は、その運動負荷が直接作用する胫骨近心骨幹端部で骨密度減少と海綿骨骨梁の減少を抑制し

た。この改善は、腓腹筋における酸化能力の増加と筋線維レベルでの肥大に伴うメカニカル・ストレスの増大による直接的な効果であると考えられる。

4. 下顎骨関節突起部や咬筋には変化がみられなかった。しかし、下顎頸部における骨髓腔の面積比率が示しているように、卵巣摘出術はその骨髓腔の拡大を引き起こしたが、走行運動はその拡大を抑制した。これは、全身的な骨代謝変動が下顎骨、特にその頸部にまで及

ぶことを示しており、咀嚼という局所的な運動と同時に、全身的要因が下顎骨にとっても重要であり、かつ直接的に関与することを示唆している。

以上の結果から、閉経直後からの定期的な運動は、主に骨吸収を抑制するとともに、バランスの取れた骨代謝を維持し、骨粗鬆症を予防するのに有効であることが示唆された。

学位論文の審査の要旨

閉経後は、エストロゲン低下に伴い、骨吸収が骨形成を上回り、骨量減少が促進され、骨粗鬆症が惹起される。これに対し、運動は骨量の減少を抑制し、骨粗鬆症を予防・改善する効果があると報告されている。しかし、走行運動による骨量減少の抑制・改善効果は運動負荷を直接受ける下肢骨などでは報告されているが、運動負荷を直接受けない下顎骨まで言及した報告はない。そこで本研究は、成熟雌ラットに卵巣摘出手術 (OVX) を施した骨粗鬆症モデルを用いて、定期的な走行運動が骨組織に及ぼす影響を検討した。血清中の骨代謝関連ホルモンと酵素活性の生化学的分析から全身的な影響を、また、胫骨と下顎骨の組織学的観察から局所的影響を解析した。

その結果、OVXによりエストロゲンが低下状態になること、また、定期的走行運動により血清プロゲステロンは有意に上昇することが確認された。さらに、走行運動は血清アルカリ性ホスファターゼ活性を対照群レベルに維持させるとともに、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性を有意に低下させた。OVXに伴うエストロゲン低下による胫骨近心端部の骨密度および骨梁の減少は、走行運動

により抑制され、対照群レベルに維持された。さらに、OVXに伴うエストロゲン低下により引き起こされた下顎頸部骨髓腔の拡大を走行運動は抑制した。これらの結果から、走行運動は運動負荷が直接影響する胫骨のOVXに伴うエストロゲン低下の影響 (骨密度・骨梁の減少) を抑制・改善すると共に、運動負荷を直接受けない下顎骨においてもOVXに伴うエストロゲン低下の影響 (骨髓腔の拡大) を抑制し、改善する効果が初めて認められた。

本研究により、エストロゲン低下に伴う骨粗鬆症において、走行運動は運動負荷を直接受ける局所的骨組織の動的バランスを改善・維持するとともに、運動は骨代謝関連ホルモンと酵素活性の改善を図り、下顎骨等を含めた全身的骨組織代謝動態の改善をもたらすことを初めて実験的に明らかにされた。高齢者歯科学における下顎骨の維持、吸収抑制ならびに改善等の研究と臨床において有益な貢献をし、歯科医学研究に寄与するところ大といえる。

審査の結果、本論文は博士 (歯学) の学位論文に値するものと判定した。