

このような結果から見て、この研究は今後の発生の研究の進展の一助となる一定の成果をあげており、学位論

文に値するものであると考えられる。

氏名・(本籍)	政 所 明 弘 (北海道)
学位の種類	博 士 (歯学)
学位記番号	乙 第58号
学位授与の日付	平成13年9月14日
学位授与の要件	学位規則第4条1項該当 (課程博士)
学位論文題目	<b>メラトニンの経口投与が骨代謝に及ぼす影響</b>
論文審査委員	主 査 教 授 五十嵐 清 治 副 査 教 授 武 田 正 子 副 査 教 授 賀 来 亨

## 論 文 内 容 の 要 旨

松果体からの分泌物であるメラトニンは、動物の日内リズムやある種の動物の季節周期による繁殖活動に関与すると言われている他、最近では抗腫瘍作用、抗酸化作用、抗うつ作用など臨床的に注目すべき作用が次々と報告されてきており、その作用の多さには、驚くべきものがあるが、骨代謝に及ぼす影響に関してはほとんど明らかにされていない。その一方で、メラトニンの分泌量の低下が骨粗鬆症の発症と相関する可能性を示唆する疫学的報告がいくつか見受けられている。すなわち、メラトニンの分泌は加齢とともに減少するが、骨粗鬆症の発症は加齢とともに増加すること。また閉経により、メラトニンの分泌は顕著に減少するが、閉経を境に、骨粗鬆症の発症は急増すること、また運動によりメラトニンの分泌が上昇するが、運動は骨粗鬆症の発症を予防するなどの報告である。われわれの研究グループはこれらの報告に着目し、メラトニンの分泌低下が骨粗鬆症の発症に関わっており、メラトニンの補充療法が骨粗鬆症の予防や治療に有効となるとの仮説を立て、メラトニンの骨に及ぼす研究に着手した。その結果、メラトニンには*in vitro*において、正常ヒト骨芽細胞の細胞増殖およびタイプIコラーゲン合成促進作用があることを発見した。さらにメラトニンの腹腔内注射が成長期のマウスの合成促進作用があることを発見した。さらにメラトニンの腹腔内注射が成長期のマウスの骨吸収を抑制し、骨密度および骨量を増加させる作用があることを報告した。しかしながら、メラトニンの経口投与が骨に及ぼす影響に関しては

いまだ十分な検討を行っていない。

本研究は成長期マウスにおけるメラトニンの口腔内投与がマウスの骨組織に注射の場合と同様な骨量増加作用が得られるかどうかを調べる目的で行われた。加えて、*in vitro*においてメラトニンの骨吸収に及ぼす効果についてウサギ骨髄由来破骨細胞様細胞の培養系を用いたdentin pit assayにより検討を行い、以下の結果を得た。

### 1. 体重に及ぼす影響

実験開始時から終了時までの4週間において、メラトニンの口腔内投与(0.1および1%/食餌)は、コントロールに比べ、マウスの体重に統計学的有意差を及ぼさなかった。

### 2. 臓器の重量および病理組織像に及ぼす影響

4週間メラトニン投与後、諸臓器(肝臓、腎臓、脾臓、心臓)の重量を検討した結果、メラトニンの口腔内投与(0.1%および1%/食餌)は、ともに諸臓器の重量にコントロールとした統計学的有意な影響をもたらさなかった。また、メラトニンの口腔内投与は病理組織学的検討においても特にメラトニン投与による病的変化を示さなかった。

### 3. 脛骨および大腿骨の長径および幅径に及ぼす影響

メラトニンの口腔内投与は脛骨および大腿骨の長径および幅径に有意な影響を及ぼさなかった。

### 4. 形態計測

#### 1) 海綿骨

1%/食餌メラトニンの投与はコントロールに比べ、

Tb.Th (骨梁幅) を有意に増加させたが、0.1%食餌のメラトニンの投与においては、有意な作用は認められなかった。またBV/TV (骨量) においては、コントロールに比べ、メラトニンの口腔内投与は、有意な増加をもたらした。一方、メラトニンの口腔内投与は、OV/TV (類骨量)、OS/BS (類骨面)、Ob.S/BS (骨芽細胞面) などの骨形成パラメーターおよびMAR (骨石灰化速度) を有意に減少させ ( $p < 0.01$  by ANOVA)、同時にOc.S/BS (破骨細胞面) およびN.Oc/BS (破骨細胞数) など骨吸収パラメーターを有意に減少させた ( $p < 0.01$  by ANOVA)。BFR (骨形成速度) に関しては、メラトニンの口腔内投与はコントロールに比べ、減少傾向を示したが、統計的有意差は認められなかった。

## 2) 緻密骨

メラトニンの口腔内投与はコントロールに比べ、Cortical area (緻密骨面)、Cortical width (緻密骨幅) およびMarrow area (緻密骨面) を増加させる傾向を示したが、統計的有意差は認められなかった。一方、メラトニンの口腔内投与は、Perioetel MAR (外骨膜性骨石灰化速度) を有意に増加させ ( $1.282 \pm 0.082$  vs.  $1.670 \pm 0.104$ ,  $p < 0.001$  by Fisher's PLSD および  $1.282 \pm 0.082$  vs.  $1.638 \pm 0.105$ ,  $p < 0.001$  by Fisher's

PLSD)、Endocortical MAR (内骨膜性骨石灰化速度) に関してもわずかに増加傾向を示したが、統計的有意差は認められなかった。

## 5. Pit assay

単離破骨細胞を用いた実験においては、メラトニンの添加は、破骨細胞の吸収能の指標であるピット数に有意な作用は及ぼさなかった。しかしながら、骨髄間質細胞を用いた培養系においては25-500 $\mu$ Mの範囲で、pit数を有意に減少させた ( $p < 0.001$  by ANOVA)。この骨髄間質細胞におけるメラトニンによる破骨細胞の吸収能抑制作用は走査型顕微鏡による観察においてもあきらかであった。

結論として口腔内投与のメラトニンは、成長期マウスの海綿骨量増加させる作用があり、その作用は主として、骨吸収抑制作用によるものであることが明らかにされた。また、pit assayの結果から、メラトニンの骨吸収抑制作用は破骨細胞への直接的作用ではなく、骨芽細胞を介した間接的作用であることが示唆された。本研究の成果はメラトニンの補充療法が、骨における吸収抑制効果、結果として骨量増加をもたらす可能性を示唆した最初の実験的報告であり、歯科医学のみならず、整形外科領域などの医学領域の発展に寄与する可能性が示された。

## 学位論文審査の要旨

近年、われわれの研究グループはメラトニンにはin vitroにおいて、正常ヒト骨芽細胞の細胞増殖およびタイプIコラーゲン合成促進作用があることを発見した。さらにメラトニンの腹腔内注射が成長期のマウスの骨吸収を抑制し、骨密度および骨量を増加させる作用があることを報告してきた。しかしながら、メラトニンの経口投与が骨に及ぼす影響に関してはいまだ十分な検討を行っていない。本研究は成長期マウスにおけるメラトニンの口腔内投与がマウスの骨組織に注射の場合と同様な効果が得られるかどうかを調べる目的で行われた。加えて、in vitroにおいてメラトニンの骨吸収に及ぼす効果についてウサギ骨髄由来破骨細胞様細胞の培養系を用いたpit assayにより検討を行い、以下の結果を得た。

1. 口腔内投与 (0.1および1%) のメラトニンは、マウスの体重に統計学的に有意な影響は及ぼさなかった。
2. 口腔内投与のメラトニンは注射で投与した場合と同様に諸臓器 (心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓) に病理組織学的変化を引き起こさなかった。
3. 口腔内用と (0.1および1%) のメラトニンは、大腿骨および脛骨の長径および幅径に有意な効果を及ぼさ

なかった。

4. 脛骨の近位端における海綿骨形態計測において、口腔内メラトニンは海綿骨量を有意に増加させた。
5. 口腔内投与のメラトニンは、骨芽細胞面、類骨量などの骨形態計測における骨形成パラメーターを有意に減少させ、同時に骨吸収面あるいは破骨細胞数など骨吸収パラメーターを有意に減少させた。
6. in vitroにおける破骨細胞様細胞を用いた破骨細胞の吸収能に及ぼす実験 (pit assay) において、0-500 $\mu$ Mのメラトニンは、破骨細胞単離の培養系においてはpit数に有意な効果を及ぼさなかったが、骨髄間質細胞を用いた培養系においては25-500 $\mu$ Mの範囲でメラトニンは、コントロールに比べ、有意にpit数を減少させた。口腔内投与のメラトニンは、成長期マウスの海綿骨量増加させる作用があり、その作用は主として、骨吸収抑制作用によるものであることが本研究から初めて明らかにされた。本研究はメラトニンの経口投与と骨代謝の関係を調べた初めての研究であり、本研究の成果は今後歯科医学の発展に大いに貢献する研究と考えられ、よって博士 (歯学) に値すると判定した。