

論文審査の結果の要旨及び担当者

報告番号	博(歯)甲第138号	氏名	森石 武史
論文審査担当者	主査教員 小守 壽文 副査教員 加藤 有三 副査教員 池田 通		
<p>論文審査の要旨</p> <p>森石 武史は、山口大学理学部生物学科を卒業。国家 種試験に合格後、平成 8 年 10 月 16 日付で長崎大学歯学部口腔病理学講座に文部技官として配属され、岡邊治男元口腔病理学教授の下で、病理診断や教育用の組織標本作製の業務を行った。平成 10 年 12 月～平成 16 年 3 月までは山口朗元硬組織分子病理学教授(現:東京医科歯科大学教授)の指導の下で、硬組織の研究に従事した。平成 16 年 8 月からは長崎大学医歯薬学総合研究科顎口腔細胞生物学分野の小守壽文教授の下で骨の発生の研究を行っている。また、平成 11 年 10 月より、社会人大学院生として長崎大学大学院歯学研究科に入学し、歯学を専攻した。定められた期間に主科目として機能口腔病理学特論、副科目として硬組織病態生理学特論を履修したほか、必修科目として 1 科目、選択科目 5 科目を履修し、合計 32 単位を取得した。所定の単位取得後、平成 16 年 2 月 12 日、学位論文の基礎となる研究要旨及び経過を、歯学研究科が主催した研究経過報告会で発表した。また、歯学研究科が行う語学試験(英語およびドイツ語)には、平成 16 年 2 月 24 日に実施した筆記試験で合格した。</p> <p>学位論文の主論文として、「Expression profile of <i>Xenopus banded hedgehog</i>, a homolog of mouse <i>Indian hedgehog</i>, is related to the late development of endochondral ossification in <i>Xenopus laevis</i>」(Biochemical and Biophysical Research Communications 328(2005)867-873)を、歯学研究科長に提出し、博士(歯学)の学位を申請した。歯学研究科教授会は、これを平成 17 年 2 月 16 日の定例委員会に付議し、論文の内容の要旨ならびに申請の資格等を検討した結果、受理して差し支えないものと認めたので、3名の審査委員を選定した。審査委員は、共同で論文の内容を慎重に審査し、申請者から研究内容の報告を受けた後、試問を行い、論文審査の結果ならびに最終試験の結果を平成 17 年 3 月 16 日の歯学研究科教授会に報告した。</p>			

論文の概要は以下の通りである。

哺乳類の骨格は膜性骨化と軟骨内骨化のどちらかの骨化様式により形成される。膜性骨化では、結合組織中の未分化間葉系細胞が直接骨芽細胞に分化し、軟骨を伴わずに骨が形成される。頭蓋冠や顔面骨、下顎骨、鎖骨の一部がこの骨化様式で形成される。一方、軟骨内骨化では、まず骨格形成予定部に軟骨コアが形成され、その中央部が肥大化し、石灰化すると周囲に骨襟が形成される。次いで骨襟周囲の結合組織から石灰化軟骨内に血管が侵入し原始骨髄が形成されると石灰化軟骨・骨髄境界部に海綿骨が形成され、軟骨内骨化が進展する。哺乳類の脊椎や四肢の長管骨はこの骨化様式で形成される。しかし、カエルなどの無尾両生類の長管骨の形成過程では軟骨内骨化が顕著に遅延することが報告されている。そのため、本研究では脊椎動物の進化の過程で軟骨内骨化がどのような変遷を遂げてきたかを明らかにする研究の一環として、アフリカツメガエルの長管骨形成過程における軟骨内骨化遅延のメカニズムを解析した。

本研究では、まず様々な発育段階のアフリカツメガエルより後肢を摘出し、組織学的に観察した。その結果、アフリカツメガエルの後肢長管骨の発生過程では、マウスのような多数の海綿骨の形成が起こらず、軟骨内骨化が遅延している様子が認められた。近年、マウスの長管骨発生過程で前肥大軟骨細胞層から前期肥大軟骨細胞層にかけて発現している *Indian hedgehog (Ihh)* が骨襟や皮質骨形成に重要な役割を果たしていることが判っている。我々は *Ihh* の受容体である *pachted1 (ptc1)* が一次海綿骨領域の骨髄細胞に発現している報告より、*Ihh* のシグナルが骨髄側の骨原生細胞に伝達され、その骨原生細胞が骨芽細胞に分化することによって軟骨内骨化を誘導するのではないかと考え、アフリカツメガエルの長管骨発生過程での *banded hedgehog (bhh)* (マウス *Ihh* のホモログ) とその受容体と標的遺伝子 *ptc1*、*gli1* および骨軟骨関連遺伝子の発現を検討した。Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)法の結果、アフリカツメガエルの長管骨形成過程を通して *bhh* の発現が認められ、その受容体 *ptc1* と標的遺伝子 *gli1* も発現していることが明らかとなった。

次に、アフリカツメガエル長管骨の脱灰パラフィン切片を作成し、*bhh*、*ptc1*、*gli1* mRNA の発現様式を In situ ハイブリダイゼーション法で解析した。その結果、海綿骨が認められない成長過程のアフリカツメガエルの長管骨では、皮質骨先端部外側の間葉系細胞に *bhh*、*ptc1*、*gli1* mRNA が発現しており、同部の細胞には *runx2* と *osteocalcin* mRNA の発現も認められ、皮質骨先端部の骨形成には *bhh* が密接に関連しており、*bhh* が骨芽細胞の分化に関与していることが示唆された。そして、骨端軟骨における *bhh*、*ptc1*、*gli1* mRNA の発現を解析すると、増殖軟骨細胞層で *bhh*、*ptc1*、*gli1* mRNA の発現が認められたが、骨髄境界部付近の肥大軟骨細胞層では *bhh*、*ptc1*、*gli1* mRNA の発現は認められなかった。成熟した個体では少数の海綿骨が認められたが、軟骨・骨髄境界部の骨髄側の間葉系細胞および、海綿骨周囲の細胞に *ptc1*、*gli1* mRNA の発現は認められなかった。つまり、アフリカツメガエルの長管骨で増殖軟骨細胞層にかけて発現している *bhh* は、軟骨細胞の増殖と皮質骨形成には関与しているが、海綿骨の形成には関与していないものと思われる。すなわち、長管骨の形成過程において皮質骨の形成と海綿骨の形成は別のメカニズムで引き起こされる事が示唆された。今後、*bhh* と *Ihh* の機能を詳細に比較し、骨髄内の海綿骨形成を誘導する因子を検索することによって、海綿骨形成に関する新たな知見を得ることが出来ると思われる。

上記審査委員会は、本研究で得られた知見が、今後、歯学の進歩に貢献するものと評価し、博士(歯学)の学位論文に値するものと認めた。