

ふ り が な 氏 名	ぶ けいちょう 武 慶超
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 924 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 4 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	Glucose Affects the Quality and Properties of Hard Tissue in Diabetes Mellitus Model (グルコースがⅡ型糖尿病モデルラット骨髄間葉系細胞の幹 性と硬組織形成に及ぼす影響)
学 位 論 文 掲 載 誌	Journal of Hard Tissue Biology 第 31 巻 第 1 号 令和 4 年 1 月
論 文 調 査 委 員	主 査 梅田 誠 教授 副 査 山本 一世 教授 副 査 富永 和也 教授

論文内容要旨

糖尿病（DM）は生活習慣病の一つであり、日本はもとより世界中で糖尿病に罹患しているといわれている。糖尿病患者は、心血管疾患、糖尿病性網膜症など複数の合併症リスクが高くなり、歯周病の発症や進行にも密接な関連があり 6 番目の合併症といわれている。しかし、Ⅱ型糖尿病（T2DM）に関連する研究では、歯槽骨が減少、増加、変化しないなど様々な結果が報告されているが、管理されていない T2DM は骨代謝障害に関わっており、骨粗鬆症、歯周病の発症や口腔インプラントの失敗のリスク因子になっていると報告されている。糖尿病と歯周病の両方に罹患している患者では、歯周病のみに罹患している患者と比較して炎症性サイトカインや骨代謝に関連している RANKL/OPG 比が上昇し、血糖コントロールによって、大きく影響を受けることが明らかになっている。本研究では、高グルコース濃度が骨髄間葉系細胞の幹性と硬組織分化に及ぼす影響について検討した。

生後 8 週齢 Goto-Kakizaki 雄性ラットの大腿骨骨髄から骨髄間葉系細胞を単離、供試した。空腹時血糖値を参考に、5.5 mM (99 mg/dL), 8.0 mM (144 mg/dL), 12 mM (216 mg/dL), 24 mM (432 mg/dL) の 4 群にグルコース濃度を調整した増殖培地にて 37°C, 5%CO₂ 条件下で 1 週間培養し、抗 STRO-1 抗体、抗 CD73 抗体、抗 CD90 抗体、抗 CD105 抗体で免疫染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。また培養 1, 3, 6, 24, 48, 72 時間後の細胞増殖を評価した。同様に同じグルコース濃度で調製した分化培地で硬組織分化誘導を行い、1 週目の ALP 活性、2 週目の OCN 産生量、細胞外マトリックスへの Ca と P 析出量を測定し、アリザリン染色を行なった。また Real-time PCR 法で 1 週目の *runx2* mRNA 発現、2 週目の TNF- α , IL-1 β , IL-6 の mRNA 発現と RANKL/OPG 比について検討した。

CD105 の発現量は各グルコース濃度で変化しなかったが、24 mM のグルコース濃度では STRO-1, CD73, CD90 の発現が有意に低下した。細胞増殖も同様にグルコース濃度が上がるにつれて低下した。ALP 活性はグルコース濃度が上がるにつれて有意に低下したが、OCN 産生量と Ca 析出量は 24 mM のグルコース濃度で有意に増加した。硬組織の質を示す Ca/P 比は Ca 析出量に類似した傾向を示し、グルコース濃度が上がるにつれて硬組織の質の変化を認めた。*runx2* mRNA の発現はグルコース濃度上昇とともに増加しており、*runx2* によりグルコースの取り込みが促進され、硬組織形成を増加させていたことが示唆された。炎症性サイトカインは 24 mM のグルコース濃度で高い発現を認めた。RANKL/OPG

比は高グルコース状態では高値を示した。

以上、高グルコース環境で形成された硬組織は通常のグルコース濃度で形成されたものと比較して多量に形成されたが質が異なっており、炎症類似状態が惹起されて骨吸収しやすい状態であったという結論を得た。

論文審査結果要旨

本研究ではⅡ型糖尿病モデル (GK) ラットを用いて、グルコース濃度が骨髄間葉系幹細胞の幹細胞性と硬組織形成に及ぼす影響について検討した。

Diabetes Mellitus (DM) 状態下における血糖値のコントロールが骨代謝に及ぼす影響を検討するため、生体内環境のグルコース濃度を模倣した細胞培養に関する研究である。Ⅱ型糖尿病モデルラット骨髄間葉系幹細胞の培養では、グルコースの濃度の上昇によって、STRO-1、CD73、CD90 などの幹細胞性マーカー発現の低下と細胞増殖の抑制を認めた。さらに、ALP 活性、*osteoprotegerin* mRNA 発現が減少した。しかし、トランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β)、炎症性サイトカインの発現、オステオカルシン産生量、細胞外マトリックスへのカルシウム (Ca) 析出量が増加した。さらに、Ca/P 比、*runx2* mRNA および *receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand* mRNA 発現が増加したと示した。高グルコース濃度で形成された硬組織が通常グルコース濃度で形成されたものとは異なり、多量に形成されるが、骨質が低下した状態であることが示唆された。それらの結果から、本研究は DM における骨代謝の理解を進める内容であると考えられる。

以上、高グルコース濃度が GK ラット骨髄間葉系細胞の硬組織形成への影響を明らかにした点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。