指　導　教　授　氏　名	指　　導　　役　　割
（自署）上岡　寛	研究の総括的指導
（自署）岡村　裕彦	研究の総括的指導
（自署）	

学　位　論　文　要　旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

教育研究分野 医歯薬学総合研究科 歯科矯正学分野	身分　大学院生	氏名　竹本　史子
論　文　題　名	機械的刺激は骨芽細胞の移動と分裂方向を制御する	

論文内容の要旨（2000字程度）

【緒言】

骨組織は機械的刺激に応答し，適切な強度が保たれることが知られている。骨強度に影響する因子として骨組織の配向性があり，骨基質中のコラーゲン線維の走行性は骨強度に重要な因子の一つといわれている。機械的伸展刺激を加えた骨芽細胞は，方向性をもった配列を示し，より配向性の高いコラーゲン線維を産生すると報告されている。また，骨芽細胞の移動は，極性のあるコラーゲンの架橋形成に影響を与えることが示唆されており，細胞分裂の方向も，基質形成方向の調節に重要であると考えられている。しかし，機械的刺激が骨芽細胞の移動方向や分裂方向に及ぼす影響，さらにそれらと細胞の配列方向との関連性についてはほとんどわかっていない。

そこで本研究では，機械的刺激が骨芽細胞の移動方向ならびに分裂方向に与える影響を明らかにするために，骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 に持続的あるいは間欠的伸展刺激を加えて，刺激後の細胞形態と，配列方向に対する移動および分裂方向の変化について検討した。

【材料ならびに方法】

マウス前骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を用い，機械的伸展刺激を加えるため，ストレッチチャンバー上で 24 時間培養し接着させた。分化培地に交換後， 10%の伸展率で持続的あるいは間欠的伸展刺激（12 回/分）を 6 時間与えた。また，静置した状態で培養した細胞を対照群とした。刺激を除去した後，細胞の形態および配列の変化を位相差顕微鏡で観察し，さらに，刺激除去後 0 時間と 24 時間で細胞を固定し，F-アクチンを蛍光染色し，細胞の形態変化および配列方向について定量的に解析した。解析には Image J 及び CellProfiler を使用した。また，刺激除去後，生細胞の核を染色し，30 分ごとに 24 時間タイムラプス撮影を行い，核の位置を追跡することにより細胞の移動方向を解析した。さらに，細胞の分裂方向を解析するために，タイムラプス像中に見られた分裂終期の細胞の分裂軸の方向を計測した。

【結果】

位相差顕微鏡観察の結果，刺激開始後 6 時間で，持続群では伸展方向に対して平行に，間欠群では垂直に近い方向に，細胞は配列する傾向を示した。刺激除去後，持続群では 6 時間まで，間欠群では 24 時間まで，それぞれの配列方向を維持していた。

細胞の形態変化に関しては，間欠群では，刺激除去後 0 時間で，細胞の縦横比は他の群に比べ著しく大きく，刺激除去後 24 時間でも，他群より有意に大きかった。持続群では，対照群と比較して統計的な有意差はなかった。

論文内容の要旨（2000字程度）

細胞の配列方向を CellProfiller により定量的に解析した結果，刺激除去後 0 時間において，細胞は，持続群では伸展方向に対して平行に，間欠群では垂直に近い配列を示した。刺激除去後 24 時間において，間欠群では垂直に近い配列を維持したが，持続群では特定の配列方向は認められなかった。

細胞の移動方向に関しては，持続群では，刺激除去後 6 時間まで伸展方向への移動量が大きく，間欠群では，24 時間まで伸展方向に対して垂直方向への移動量が大きかった。

分裂方向に関しては，持続群と対照群の間に統計的な有意差がなかったのに対して，間欠群では，細胞は伸展方向に対して垂直に近い方向に分裂する傾向を示した。

【考察】

骨芽細胞は与えられた伸展刺激に応じて配列し，その配列方向に移動することが明らかになった。さらに持続的刺激と間欠的刺激が細胞に与えた影響を比較すると，間欠的刺激のほうが，細胞の配列と移動方向を規制する時間が長く，また，細胞の縦横比に及ぼす変化の度合いも大きかった。以上のような違いを生じた要因として，細胞に加わる刺激の頻度の差により細胞が受容するシグナル量が異なることが考えられる。刺激の頻度が高いほど細胞に伝達されるシグナルと細胞の反応性が大きくなることが報告されており，そのシグナルの量に応じて細胞の配列方向や形態が変化すると考えられる。したがって，本研究において間欠群のほうが反応の持続時間が長く細胞形態変化が著しかったのは，間欠群では伸展による刺激が繰り返されることで，持続的刺激に比較して細胞内シグナルが増強された結果ではないかと考えられた。

さらに細胞の分裂方向について，間欠群では，刺激除去後 24 時間まで，細胞は配列方向と同様の方向に分裂する傾向を示した。細胞の分裂方向はその長軸方向に一致することが知られており，間欠群ではこの法則に一致した結果となった。しかし，持続群では，配列方向と分裂方向に明らかな相関を認めなかった。これは，本研究で用いた持続的刺激の条件では，細胞の配列方向の制御がそれほど明瞭ではなく，さらに，細胞分裂の方向性を制御する重要な因子と言われる細胞形態の伸長も，それほど生じなかったためではないかと考えられた。

【結論】

以上より，機械的伸展刺激は，骨芽細胞の配列方向を調節することによって移動方向を規定し，また，細胞形態を伸長させることにより分裂方向にも影響を与えると考えられた。