

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 歯学 )	氏名	久保 尚毅
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
論文題目 Longitudinal effects of estrogen on mandibular growth and changes in cartilage during the growth period in rats (成長期ラットにおけるエストロゲンの下顎骨成長および軟骨への経時的影響)			
論文審査担当者			
主 査	教授 相川 友直 印		
審査委員	教授 宿南 知佐		
審査委員	教授 二川 浩樹		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p><b>【目的】</b> 女性ホルモンであるエストロゲンは思春期の二次性徴の発現や、妊娠、授乳調整などにおいて重要な役割を果たすとともに、骨代謝を調節する機能を有し長管骨成長板の内軟骨性骨化に影響を及ぼすことが示唆されている。しかし、内軟骨性骨化を伴う下顎骨成長および下顎頭軟骨へのエストロゲンの詳細なメカニズムは明らかでない。本研究では卵巣摘出術 (Ovariectomy、以下 OVX) を施行した成長期ラットにおいて、エストロゲン投与が下顎骨成長および軟骨へ及ぼす影響について明らかにすることを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b> 実験動物には、3 週齢 Wistar/ST 雌性ラットを使用し、1 週間の予備飼育の後に実験を開始した。エストロゲン投与にはエストロゲンの一種である (17β-Estradiol、以下 E) を用い、実験終了まで 2 日おきに背部皮下投与を行った。ラットは偽手術 (sham) 群、OVX 群、OVX+5E (5 μg E 投与) 群、OVX+50E (50 μg E 投与) 群の 4 群に分類し、以下の実験 1-5 を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 実験開始 32 日にラットを犠牲にし、灌流固定を行った後子宮組織を摘出し、形態観察を行った。</li> <li>2. 実験開始 2、9、16、23、30 日に体重測定を行い、体重変化およびその増加量について評価した。また、実験開始 30 日における表現型を比較評価した。</li> <li>3. 2 と同実験系で、頭部マイクロ CT 撮影を行い、三次元的下顎骨成長の変化およびその増加量について評価した。ランドマークとして下顎下縁上の骨棘再下点を Me、下顎頭最後方点を Cd、下顎角突起最後方点を Go、筋突起最後方点を Co と設定した。</li> <li>4. 1 と同様に下顎頭組織 (Mandibular condylar cartilage、以下 MCC) を摘出した。24 時間の後固定を行った後、6 週間脱灰しパラフィン包埋を行い組織切片とした。MCC 切片は、ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色にて軟骨細胞形態および細胞密度の測定を行った。次に、サフラニン O フェーストグリーン染色およびトルイジンブルー (TB) 染色において、軟骨基質染色性の変化を評価した。さらには、免疫組織化学染色 (IHC) を用いて MCC におけるエストロゲン受容体 (Estrogen receptor、以下 ER) α および ERβ 発現の変化を評価した。</li> <li>5. 実験開始 2、9、16、23、30 日に採血を行い、血漿中成長ホルモン (Growth hormone、以下 GH) の濃度変化への影響を経時的に評価した。GH は酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) にて評価を行った。</li> </ol> <p><b>【結果】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. OVX 群の子宮組織は著しく萎縮していた。一方で、OVX+5E および OVX+50E 群は sham 群に近似した形態を示した。</li> <li>2. ラットの体重は実験を通して増加した。体重増加量について評価したところ、9-16 日、16-23 日、23-30 日において、OVX 群は OVX+5E および OVX+50E 群と比較して有意に増加量が大きかった。次に表現型においては、エストロゲン濃度に</li> </ol>			

依存して OVX+5E および OVX+50E 群の体型は、OVX 群よりも小さかった。

3. 下顎骨は実験を通して伸長成長を認めた。実験開始 23、30 日における OVX 群の下顎骨の長さは、全ての測定項目において OVX+50E より有意に大きかった。また、下顎骨の伸長量を評価したところ、2-9 日、16-23 日、23-30 日における OVX 群の Me-Cd 伸長量は OVX+5E および OVX+50E 群と比較して有意に大きかった。

4. HE 染色において、増殖層の細胞核の形態計測を行ったところ、OVX+5E および OVX+50E 群は sham および OVX 群と比較して有意に円形に近似した形態を示した。サフラニン O ファストグリーン染色および TB 染色において、OVX 群の軟骨下骨内の軟骨基質は OVX+50E 群と比較して染色範囲が少ない様相を示した。IHC 染色において、増殖層における ER $\alpha$  および  $\beta$  の発現は MCC 後方部にしか認められず、前方部には発現が認められなかった。また、OVX+5E および OVX+50E 群における ER $\alpha$  および  $\beta$  の発現は、OVX 群と比較して有意に少なかった。

5. 血漿中 GH は実験を通して sham および OVX 群と比較して OVX+50E 群で有意に多かった。

#### 【考察】

エストロゲンは成長期を通して持続的に下顎骨成長を抑制し、代償的に GH 濃度を増加させることが示唆された。また、軟骨基質産生を増加させ軟骨内骨化における骨置換の足場形成を促進していることが示唆された。さらに、ER は MCC 後方部に多く発現し、下顎骨の後上方への成長へ影響している可能性が示唆された。

以上の結果から、本論文はエストロゲンがエストロゲン受容体を介した軟骨内骨化に影響を及ぼし、それに伴う下顎骨成長を調整している可能性を示した有用な研究データを提供した。そのため、発達成育に基づく矯正歯科学や関連歯科医学の発展に寄与する点が大きいと高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。