

学位審査結果報告書

学位申請者氏名 中垣 龍太郎

学位論文題目 Simulated microgravity environment inhibits matrix mineralization during the osteoblast to osteocyte differentiation

審査委員 (主査氏名) 有吉 渉 (署名) 有吉 渉

(副査氏名) 竹内 弘 (署名) 竹内 弘

(副査氏名) 松原 琢磨 (署名) 松原 琢磨

学位審査結果の要旨

宇宙空間の長期滞在により骨量や骨密度が減少することから、骨組織の形態と機能の維持に重力が重要な役割を果たしていると考えられる。近年、骨芽細胞と破骨細胞に加えて、メカノセンシング機能を有する骨細胞が骨代謝に重要な役割を果たすことが明らかになってきた。骨代謝プロセスにおいて、骨細胞は骨芽細胞から分化し、細胞周囲の基質を石灰化により骨形態の維持に関与する。しかし微小重力環境下での骨細胞の動態については不明な点が多い。そこで本研究では、多方向重力制御装置により微小重力環境を再現した培養系における骨細胞の動態を明らかにすることを目的とした。

IDG-SW3 細胞をフラスコに播種後、分化培地で 14 日間培養し、骨芽細胞から骨細胞への分化を誘導した。分化誘導後、1G 環境の培養群 (Static 群) と、多方向重力制御装置内での培養群 (μ G 群) の 2 群に分け、26 日間培養した。培養 14, 18, 22, 26 日目に Alizarin red 染色により細胞の石灰化を定量し、2 群間を比較した。また両群の各タイムポイントの細胞より total RNA を抽出し、cDNA へ逆転写後、骨細胞の分化や機能に関連する遺伝子発現をリアルタイム PCR 解析により調べた。さらに 培養 26 日目の細胞より抽出した total RNA について RNA シークエンス (RNA-Seq) を用いた網羅的な遺伝子発現解析を行った。

Alizarin red 染色では、Static 群と比較し μ G 群で石灰化の範囲は有意に低下しており、骨細胞の分化、成熟に重力が重要な役割を果たしていることが示唆された。また、PCR 解析では μ G 群における *Dmp1*, *Fgf23*, *Rankl*, *Alpl* の mRNA 発現量が有意に高値を示す。一方で *Phex*, *Sost* の mRNA 発現量は Static 群と比べて低下した。さらに RNA-Seq 解析では、 μ G 群において細胞外マトリックスの構成に関連する遺伝子の抑制が著明であった。

以上より、骨芽細胞から骨細胞への分化・成熟過程において重力が重要な役割を果たし、骨の石灰化に関連する遺伝子の発現変化が無重力環境下における骨密度の減少に関与している可能性が示唆された。

本研究内容について申請者の中垣氏に対し、研究の背景や実験の手技の詳細や意義、結果の解釈、今後の研究展開などについて、主査と 2 名の副査による諮問を行い、概ね適切な回答を得た。本研究は、いまだ不明な点が多い骨細胞の分化修飾を証明したものであり、今後の研究の深化が微小重力下における複雑な骨代謝機構のさらなる理解に繋がることが期待されることから、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。