

学位論文題名

Some osteocytes released from their lacunae are embedded again in the bone and not engulfed by osteoclasts during bone remodeling

(骨改造現象において骨小腔から掘り出された骨細胞のうちの幾つかは、破骨細胞によって貪食されずに、再び骨基質中に埋入される)

学位論文内容の要旨

骨組織では、既存の骨基質が吸収された後に新たな骨基質が形成される骨改造現象、すなわち骨リモデリングが生涯を通じて絶えず繰り返されている。緻密骨の場合ハバース系のうち破骨細胞が骨基質を吸収している領域について cutting cone、骨芽細胞が骨基質を形成している領域について closing cone、そして両者の移行部について reversal zone という用語が、またこれら三つの領域から構成されるハバース系について骨リモデリング単位という用語が用いられることがある。cutting cone において破骨細胞によって形成された吸収面上には、reversal zone においてリバーサルラインが形成され、その後 closing cone において骨芽細胞によって新しい骨基質が添加されるにつれてリバーサルラインはセメントラインと名称を変え、ハバース系の外形線となる。従って、セメントラインは吸収されずに残った古い骨基質と、closing cone において新たに形成された骨基質とを境するだけでなく、cutting cone において破骨細胞が骨を吸収した限界を表す軌跡でもある。骨リモデリング単位の三つの要素が同時に観察されるハバース系の縦断像では、cutting cone における骨吸収面と、reversal zone におけるリバーサルライン、そして closing cone におけるセメントラインとが連続している。

骨芽細胞が自らの分泌する骨基質中に埋入されると骨細胞になること、そして骨細胞が骨の構成要素のうちの分化した細胞、すなわち破骨細胞と骨芽細胞と骨細胞、の中で最も多く存在する骨細胞であることはよく知られている。骨リモデリング中には、破骨細胞が骨を活発に吸収するにつれて多数の骨細胞が骨小腔から掘り出されるが、これらの掘り出された骨細胞の運命については、(1)その全てが破骨細胞によって貪食される、(2)骨小腔から移動するという二つの説が現在まで報告されている。しかし、(1)(2)の説とも一切片上での二次元的な観察に基づいているために、未だ不明な点が多く残っている。それゆえ本研究は、骨リモデリング単位において骨吸収面とセメントラインとが連続していること、及び、ほとんどの骨細胞はセメントラインから離れた位置に埋入されているが中にはセメントライ

ンと骨小腔とが連絡している骨細胞も存在することに基づき、cutting cone において骨吸収面上に存在する骨細胞と closing cone においてセメントライン上に存在する骨細胞とを三次元的に詳細に比較検討することによって、破骨細胞により骨小腔から掘り出された骨細胞のその後の動態を解明する事を目的とした。

本研究では、咬合と切歯の萌出による持続的な力が加わるために活発な骨リモデリングが行われているラット下顎骨骨体部緻密骨部分を試料として用いた。試料は固定、脱灰の後、エポン812に包埋し、前頭断連続準超薄切片(0.5 $\mu$ m厚)を作成した。連続切片はメチレンブルー・アズールII染色後、光学顕微鏡を用いて観察し、cutting cone において骨吸収面上に存在する骨細胞と closing cone においてセメントライン上に存在する骨細胞とを三次元的に詳細に比較検討した。また試料の一部から前頭断超薄切片を作成し、酢酸ウラン・クエン酸鉛二重染色後、透過型電子顕微鏡を用いて骨リモデリングに関する細胞の超微細構造を観察した。なお本研究では、骨細胞が骨細管中に伸ばした多数の細長い細胞突起を介して別の骨細胞や骨芽細胞と連絡しているという特徴を持つことから、細胞体の一部が骨小腔に接していて、かつ骨細管内に突起を伸ばしている細胞を骨細胞と識別した。

その結果、cutting cone において骨吸収面上に存在する骨細胞には、三次元的に(1)細胞体の半分が破骨細胞によって骨小腔から掘り出された型と、(2)細胞体の大部分が掘り出された型の二つの型があることが観察された。しかし、ほとんどは(1)型の半分掘り出された骨細胞で、(2)型のほとんど掘り出された骨細胞は、細胞体がメチレンブルー・アズールIIに濃染していてその構造が不明瞭だった。(1)型の半分掘り出された骨細胞を透過型電子顕微鏡を用いて観察すると、細胞質中に発達したミトコンドリアや粗面小胞体を持ち、また骨細管中に突起を伸ばしていて、骨細胞としての形態的特徴を保っていた。一方、closing cone においてセメントライン上に存在する骨細胞は、三次元的に細胞体の半分がセメントラインと連続する骨小腔内に存在し、残り半分の細胞体がセメントライン上の骨基質中に埋入された型しか観察されなかった。このような半分埋入された骨細胞を透過型電子顕微鏡を用いて観察すると、細胞質中に発達したミトコンドリアや粗面小胞体、そしてゴルジ装置をもち、また骨細管中に突起を伸ばしていて、骨細胞としての形態的特徴を持っていた。以上の、cutting cone において骨吸収面上に存在する半分掘り出された骨細胞と closing cone においてセメントライン上に存在する新しい骨基質中に半分埋入された骨細胞とが、骨吸収面あるいはセメントラインとの三次元的な位置関係およびその超微細構造に関して同じ特徴を示したことから、半分埋入された骨細胞は、半分掘り出された骨細胞に由来することが示唆された。

次に、破骨細胞によって骨細胞が貪食される可能性について検索した結果、一切片上では破骨細胞によって貪食されているように見える骨細胞が幾つか観察されたが、それらの細胞を連続切片を用いて三次元的に観察すると、細胞体的一部分が破骨細胞によって取り囲まれているだけだった。また、骨細胞の核と同程度の大きさをもつ細胞遺残物様構造物が三次元的に破骨細胞の細胞体の内部に取り込ま

れている像も幾つか観察されたが、これらの構造物が骨細胞であったことを示すような所見は得られなかった。それゆえ、本研究では破骨細胞によって骨細胞が貪食される可能性については結論がでなかった。

結論として、骨改造現象において、破骨細胞によって骨小腔から掘り出された骨細胞の全てが破骨細胞によって貪食されるわけではなく、そのような掘り出された骨細胞のうちの幾つかは、そのまま再び骨基質中に埋入されることが本研究において初めて明らかになった。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 脇 田 稔

副 査 教 授 松 本 章

副 査 教 授 吉 田 重 光

学 位 論 文 題 名

## Some osteocytes released from their lacunae are embedded again in the bone and not engulfed by osteoclasts during bone remodeling

(骨改造現象において骨小腔から掘り出された骨細胞のうちの幾つかは、破骨細胞によって貪食されずに、再び骨基質中に埋入される)

緻密骨リモデリングの場合、破骨細胞による骨吸収領域について cutting cone、骨芽細胞による骨形成領域について closing cone、両者の移行部について reversal zone という用語が、またこれら三つの領域から構成されるハバース系について骨リモデリング単位という用語が用いられることがある。cutting cone における骨吸収面上には、reversal zone においてリバーサルラインが形成され、その後 closing cone においてリバーサルラインはセメントラインと名称を変え、ハバース系の外形線となる。従ってセメントラインは新旧の骨基質の境界であると同時に、破骨細胞が骨を吸収した限界を表す軌跡でもある。ハバース系の縦断像では骨吸収面とリバーサルライン、そしてセメントラインとが連続しているのが観察される。

骨リモデリング中には、破骨細胞によって多数の骨細胞が骨小腔から掘り出されるが、そのような骨細胞の運命については、(1)その全てが破骨細胞によって貪食される、(2)骨小腔から移動するという二つの説が現在まで報告されている。しかし、(1)(2)の説とも一切片上での二次元的な観察に基づいているために未だ不明な点が多く残っている。

本研究は、cutting cone において骨吸収面上に存在する骨細胞と closing cone においてセメントライン上に存在する骨細胞とを三次元的に詳細に比較検討することによって、破骨細胞により掘り出された骨細胞のその後の動態を解明するために行ったものである。

活発な骨リモデリングが行われているラット下顎骨骨体部緻密骨部分の前頭断連続準超薄切片を光学顕微鏡を用いて観察した結果、cutting cone において骨吸収面上に存在する骨細胞には、三次元的に(1)細胞体の半分が破骨細胞によって骨小腔から掘り出された型と、(2)細胞体の大部分が掘り出された型の二つの型があった。しかし、ほとんどは(1)型の半分掘り出された骨細胞で、(2)型のほと

んど掘り出された骨細胞は、その構造が不明瞭だった。一方、closing cone においてセメントライン上に存在する骨細胞は、三次元的に細胞体の半分がセメントラインと連続する骨小腔内に存在し、残り半分の細胞体がセメントライン上の骨基質中に埋入された型しか観察されなかった。またこのような cutting cone における半分掘り出された骨細胞と closing cone における半分埋入された骨細胞を透過型電子顕微鏡を用いて観察した結果、どちらも細胞質中に発達したミトコンドリアや粗面小胞体を持ち、また骨細管中に突起を伸ばして骨細胞としての形態的特徴を保っていた。

以上のように、cutting cone において骨吸収面上に存在する半分掘り出された骨細胞と closing cone においてセメントライン上に存在する半分埋入された骨細胞とが、骨吸収面あるいはセメントラインとの三次元的位置関係及びその超微細構造に関して同じ特徴を示したことから、半分埋入された骨細胞は、半分掘り出された骨細胞に由来することが示唆された。

次に破骨細胞によって骨細胞が食食される可能性について検索した結果、一切片上では破骨細胞によって食食されているように見える骨細胞が幾つか観察されたが、それらは三次元的には細胞体の一部分が破骨細胞によって取り囲まれているだけだった。また、細胞遺残物様構造物が三次元的に破骨細胞の細胞体の内部に取り込まれている像も幾つか観察されたが、これらが骨細胞であったことを示すような所見は得られなかった。それゆえ、本研究では破骨細胞によって骨細胞が食食される可能性については結論がでなかった。

以上のように本研究は、骨リモデリングにおいて破骨細胞によって骨小腔から掘り出された骨細胞の全てが食食されるわけではなく、それらの幾つかはそのまま再び骨基質中に埋入されることを、cutting cone における骨吸収面上の骨細胞と closing cone におけるセメントライン上の骨細胞とを三次元的に詳細に比較検討することによって初めて明らかにしたものである。

本論文提出者に対して、主査並びに副査からまず本論文の概要についての説明が求められた。次いで本論文の内容並びに関連のある事項に関する質疑応答が行われたが、いずれの質問に対してもそれぞれ適切な回答が得られた。また、本研究における骨細胞の動態の解明に関する独創的な視点、並びに今後骨代謝機構の究明に関して大いに貢献する可能性が高く評価され、本論文提出者は博士（歯学）に値すると認められた。