

[別紙 2]

審査結果の要旨

小谷 博子

本研究は、強静磁場の骨形成に及ぼす効果を明らかにすることを目的として、8T (テスラ)の超電導マグネットを用い、強静磁場の骨形成促進効果ならびに形成制御効果の有無について *in vivo* および *in vitro* 実験で検討し、以下の結果を得ている。

- 1、マウスを長時間(60 時間)静磁場に曝露可能な 8 T 超電導マグネットの新システムを確立した。
- 2、骨形成因子であるリコンビナントヒト BMP(Bone Morphogenetic Protein)-2 のペレットをコラーゲンとの凍結乾燥により作成し、マウスの腰部皮下に移植し異所性骨化モデルを確立した。
- 3、異所性骨化モデルマウスを 60 時間静磁場に曝露後、21 日目に軟 X 線写真撮影、骨量 (BMC ; bone mineral content) を行ったところ、静磁場曝露群では非曝露群と比較して有意な骨量の増加が認められ、静磁場に骨形成促進作用を有することが示された。
- 4、60 時間静磁場に曝露により、異所性骨化モデルマウスの骨化組織は非曝露群でランダムな形状を呈したのに対し、曝露群ではそのすべてが磁場の方向に平行に長く伸びた骨化組織が出来ていたことから、静磁場には骨形成制御作用を有することが確認された。
- 5、60 時間静磁場に曝露した異所性骨化モデルマウスの骨化組織は、組織学的に線維性骨を基調として観察されたものであることが確認された。
- 6、厳密な温度コントロール下で、長時間に渡って静磁場に曝露可能な細胞実

験の新しい系を確立した。

7、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞をフラスコに播種後、8.0 T の静磁場中に 60 時間連続曝露したところ、非曝露群では細胞がランダムに配向したのに対し、曝露群では全細胞が磁場方向とほぼ平行に配向していたことから、付着細胞も、高分子や浮遊細胞と同じように、強静磁場により、磁場配向現象を有することが確認された。

8、NIH Image ソフトを用いて細胞の配向方向と磁場方向との角度を計測したところ、配向係数 f_{2D} はそれぞれ曝露群で 0.92、非曝露群で 0.04 で、曝露群は非曝露群に比べ著明に高い配向秩序を有することが定量的に示された。

9、静磁場曝露した培養骨芽細胞の増殖に対する静磁場の影響について検討したところ、BrdU (5-bromo-2'-deoxyuridine)の取り込み指標法および細胞数カウント法において、細胞増殖は静磁場曝露によって影響を受けなかった。

10、静磁場曝露の培養細胞の分化に対する影響について検討したところ、アルカリフォスファターゼ活性を指標にしたときの細胞分化において、曝露群は非曝露群に比べて有意に高い活性を示した。また、ALP 染色においても、非曝露群では骨芽細胞から分泌された細胞基質がランダムであったのに対し、曝露群では骨芽細胞から分泌された細胞基質は磁場方向と平行に配列していたことから、静磁場曝露により骨芽細胞の向きが制御され、分化が促進されることが示された。

以上から、本論文では、テスラオーダの強静磁場が強力な骨形成能を呈するのみでなく、BMP などの分化誘導化学物質と組み合わせることによってその形成方向を管理できることを明らかにした。本研究ではこれまで不可能とされていた骨形成の方向性の制御を可能にしたものであり、そのメカニズムについても科学的思考により検討し、深い考察を行っている。本研究は人工骨作成のための画期的な方法となり、将来、医学に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。