

II-B-O-81

下垂体除去ラット骨組織における骨基質蛋白
遺伝子の発現について
—非アイソトープ系 in situ ハイブリダイ
ゼーション法の応用—

横瀬 敏志、池田 通、山口 朗、
田島 義文*、内海 順夫*、吉木 周作
(昭和大・歯・口腔病理、明海大・歯・
口腔病理*)

目的：近年、非アイソトープ系のプローブを用いた in situ ハイブリダイゼーション法の応用が数多く試みられてきている。しかしながら、骨をはじめとする硬組織におけるこれらの in situ ハイブリダイゼーション法の応用は、組織切片の作成上種々の問題があり困難とされてきた。池田らは非脱灰骨組織における樹脂包埋切片を用いた in situ ハイブリダイゼーション法を独自に確立し、各種骨基質蛋白遺伝子の発現を明らかにした (J.Histochem. Cytochem. 1992 in press)。本研究では非アイソトープ系 in situ ハイブリダイゼーション法を用いて、骨組織の成長、発育に著しい影響を及ぼすと言われている下垂体除去ラットの骨組織における、骨基質蛋白遺伝子発現の変化について検討した。

材料と方法：生後4週令の雄 Sprague-Dawley 系ラットの下垂体除去を行い、その後5週間飼育した動物から大腿骨組織を摘出し、4% paraformaldehyde にて固定を行った。対照として同週令の正常ラットから大腿骨を摘出し同様に固定した。固定後、組織を EDTA にて脱灰し、通法に従いパラフィンに包埋して切片を作成した。DIG で標識した I 型コラーゲンとオステオカルシンの RNA プローブを用いて in situ ハイブリダイゼーションを行った。

結果と考察：正常ラットの骨組織における I 型コラーゲンとオステオカルシンの mRNA の発現は主に骨芽細胞にみとめられた。下垂体除去ラット骨組織における骨芽細胞での mRNA の発現は正常ラットのものに比べて著しい減弱を示した。これらの結果は骨芽細胞における骨基質蛋白の合成機能が下垂体の除去により低下したことを示唆している。また非アイソトープ系 in situ ハイブリダイゼーション法が骨組織において有用な方法であると考えられる。

II-B-O-82

鶏胚内軟骨性骨化過程および幼鶏移植骨膜組織の骨化過程における X 型コラーゲン mRNA の局在と動態—in situ hybridization 法による検討—

猪山賢一¹、長元法喜²、北岡光彦¹
(熊大・医・神経分化¹、整形外科²)

【目的】内軟骨性骨化過程においては、骨軟骨型コラーゲン (「コ」) 遺伝子の空間的、時間的発現と調節がマトリックスの改築に重要性を示している。分化した肥大軟骨細胞で発現される X 型「コ」遺伝子を中心に、鶏胚椎体と幼鶏骨膜移植下の骨形成過程について in situ hybridization (ISH) 法により検討した。【方法】幼鶏椎体 (stage 35-45)、および生後1日目幼鶏脛骨骨膜を大胸筋筋膜上に移植し、移植後5、9日目の異所性骨組織を材料とした。ISH 法 (³H ラベル I, II, X 「コ」 cDNA プローブ) により組織内「コ」I, II, X mRNA の局在を証明した。

【結果】鶏胚椎体では、stage 36で肥大軟骨細胞の出現と一致して X 型「コ」遺伝子の活発な転写活性を認め、同時に II 型「コ」 mRNA の減少と血管の侵入が相関していた。一方、骨膜移植においては境界が明瞭で、高い I 型「コ」 mRNA の発現を示す膜性骨化領域と II, X 型「コ」 mRNA の高いシグナルを持つ内軟骨性骨化の領域を認めるが、そのほかに早期に X 型「コ」 mRNA の強い発現を示す非肥大軟骨細胞の増殖像が観察され、I 型「コ」 mRNA を強く発現する骨組織内にも X 型「コ」 mRNA をもつ小型軟骨細胞を確認出来た。