

Title	Expression profiles of NOS isoforms in gingiva of nNOS knockout mice
Author(s)	石岡, みずき
Journal	歯科学報, 114(6): 634-635
URL	http://hdl.handle.net/10130/3533
Right	

氏名(本籍)	いしおか 石 岡 みずき (群馬県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1962号(甲第1208号)
学位授与の日付	平成24年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Expression profiles of NOS isoforms in gingiva of nNOS knockout mice http://dx.doi.org/10.1016/j.tice.2013.12.003
掲載雑誌名	Tissue and Cell 第46巻 2号 122-126頁 2014年4月
論文審査委員	(主査) 井上 孝教授 (副査) 柳澤 孝彰教授 新谷 誠康教授 齋藤 淳教授 橋本 貞充准教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

NO(一酸化窒素)の生成を触媒する酵素であるNOS(一酸化窒素合成酵素)には3種のアイソフォーム(nNOS, iNOS, eNOS), が報告されている。ヒト歯肉では、歯周疾患の際にiNOSが強陽性に発現すると報告されているが、歯肉の各部位、細胞における各種NOSの発現は明らかでない。またNOSには、組織毎に主体となって働くアイソフォームが異なる“部位特異性”があるが、歯肉における報告はない。本研究は、NOSの一つであるnNOSをノックアウトにより人為的に欠如させ、他種NOSの発現の変化をmRNAレベルおよびタンパクレベルで検索し、歯肉におけるNOSの部位特異性を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

材料は体重20~25gの雄性マウス12匹であり、実験群にnNOSノックアウトマウスを、対照群にC57BL/6マウスを使用した。通法に従い標本としたのち、免疫組織化学染色により各種NOSタンパクの局在を、in situ hybridizationにより各種NOS mRNAの発現を観察し、mRNAの結果に対しては発現量を数値化して客観的に評価するため輝度の解析を行った。

3. 研究成績および結論

歯内の固有層においてはnNOS欠損時にiNOS, eNOSの発現がタンパクレベル、mRNAレベルとも増強していた。これはnNOSの欠損に対する代償性変化である可能性が考えられる。共同研究者によるiNOS, eNOSのノックアウトを用いた研究と比べて、固有層ではnNOSのノックアウトによる変化が大きく歯肉固有層においては、3種のアイソフォームのうちnNOSが重要な役割を担っていることが示唆された。

論文審査の要旨

NOS(一酸化窒素合成酵素)には3種のアイソフォーム(nNOS, iNOS, eNOS), が報告されている。ヒト歯肉では、歯周疾患の際にiNOSが強陽性に発現すると報告されているが、歯肉の各部位、細胞における各種NOSの発現は明らかでない。またNOSには、組織毎に主体となって働くアイソフォームが異なる“部位特異

性”があるが、歯肉における報告はない。

本研究は、NOSの一つであるnNOSをノックアウトにより人為的に欠如させ、他種NOSの発現の変化をmRNAレベルおよびタンパクレベルで検索し、歯肉におけるNOSの部位特異性を明らかにすることを目的とした。実験群にnNOSノックアウトマウスを、対照群にC57BL/6マウスを使用し(両群共体重20~25g♂)免疫組織化学染色により各種NOSタンパクの局在を、in situ hybridizationにより各種NOS mRNAの発現を観察し、mRNAの結果に対しては発現量を数値化して客観的に評価するため輝度の解析を行った。

本審査委員会は、1) nNOSの欠損による歯肉の変化について、2) 輝度の解析方法について、3) 示された結果についての臨床的意義について質問がなされた。これらの質問に対して、1) 肉眼的には両群とも歯肉に異常所見は認めなかったもののiNOSとeNOSの増強によりNOの発現量も増加していることが示唆され、肉眼的には検出できないレベルでのダメージが起こっている可能性が高い、2) 細胞質の輝度解析の方法および評価方法の説明、3) 小児歯科においては若年性歯周炎、矯正治療時のNOS発現の変化が報告されていることを挙げ、nNOS欠損時に人為的に炎症、創傷などの条件を付加することにより臨床的意義は高まるが、本研究はその基礎となるものである、と説明がなされ、概ね妥当な回答が得られた。その他英文表現について、論文の整理について、用語の訂正、図表の表現方法など多くの修正すべき点が指摘され、訂正が行われた。

本研究で得られた結果は、今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり、学位授与に値するものと判定した。