

Title	Effects of epidermal growth factor and/or nerve growth factor on Malassez ' s epithelial rest cells in vitro : expression of mRNA for osteopontin, bone morphogenetic protein 2 and vascular endothelial growth factor
Author(s)	山脇, 健史
Journal	歯科学報, 110(4): 536-537
URL	http://hdl.handle.net/10130/1996
Right	

氏名(本籍)	やま わき けん じ 山 脇 健 史 (高知県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1822号(甲第1093号)
学位授与の日付	平成21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	Effects of epidermal growth factor and/or nerve growth factor on Malassez's epithelial rest cells in vitro : expression of mRNA for osteopontin, bone morphogenetic protein 2 and vascular endothelial growth factor
掲載雑誌名	Journal of Periodontal Research 第45巻 421~427頁 2010年
論文審査委員	(主査) 井上 孝教授 (副査) 山田 了教授 末石 研二教授 下野 正基教授

論文内容の要旨

1. 研究目的

マラッセの上皮遺残細胞は歯根膜の恒常性維持や創傷治癒に関与していることが報告されているが、詳細については不明な点が多い。創傷治癒時に分泌される各種成長因子がマラッセの上皮遺残細胞へも影響を及ぼすことも否めない。神経成長因子(NGF)は神経細胞の分化・成熟や維持などに重要な役割を担っており、NGFの受容体がマラッセの上皮遺残細胞に存在することが報告されている。

形態学的にマラッセの上皮遺残細胞と自由神経終末との関連が報告されていることから創傷を受けた際に神経終末からのNGFがマラッセの上皮遺残細胞を通じて治癒に関与する可能性がある。上皮増殖因子(EGF)は上皮系組織の分化と増殖に関与し、マラッセの上皮遺残細胞は歯根嚢胞の裏装上皮や歯周ポケットの上皮侵入に関与していることが報告されている。つまり創傷を受けた際におけるEGFがマラッセの上皮遺残細胞になんらかの影響を及ぼしている可能性が考えられる。本研究の目的は、NGFおよびEGFの各成長因子がマラッセの上皮遺残細胞に及ぼす影響を分子生物学的に検索することである。

2. 研究方法

ブタ歯根膜より採取したマラッセの上皮遺残細胞を α -MEM+10%FBS+0.6%Gentamicin添加培養液を用いて37℃、5%CO₂条件下にて7継代培養したものを実験に用いた。実験群にはNGFあるいはEGFを加えた。添加後3.9時間経過後細胞を回収し、RNAを抽出しTAQMANを用い定量RT-PCRによりOsteopontin(OPN)、Bone morphogenetic protein 2(BMP-2)およびVascular endothelial growth factor(VEGF)のmRNAの発現を測定した。対照群はNGF、EGFを加えないものとした。

また、細胞接着及び細胞増殖を計測するとともに培養細胞はcytokeratin19にて免疫蛍光染色およびウェスタンブロット染色を行った。

3. 研究成績および結論

免疫蛍光染色において培養細胞はCK-19に陽性を示し、ウェスタンブロット染色においても陽性を示した。このことから今回用いた培養細胞は上皮系の特徴を有していることが認められた。

NGF添加群は9時間例においてOPN mRNAの発現は、対照群およびEGF添加群と比較して減少した。

また、BMP-2mRNA 発現量も同様に9時間例において減少した。EGF 添加群の VEGF mRNA 発現量は3および9時間例において対照群および NGF に比べて高い値を示した。NGF 添加群は、3および9時間例において対照群と比較して低い値を示した。

以上の結果より、障害刺激により EGF および NGF が分泌されると、EGF はマラッセ上皮遺残細胞の VEGF mRNA の発現量を増加し、NGF は OPN と BMP-2mRNA 発現量を減少させた。つまり VEGF が発現することにより歯根膜細胞の維持に働き、また OPN と BMP-2の発現を抑制することで歯根の骨性癒着を抑制させることが示唆された。

論文審査の要旨

MER は歯根膜の恒常性維持機構に重要な役割を演じている。EGF と NGF は炎症や機械的刺激に対して分泌されるタンパクであり、これらが MER 細胞に与える影響について検索した。EGF あるいは NGF を培養 MER 細胞に作用させ、細胞接着および細胞増殖能、osteopontin、BMP-2、VEGF の mRNA を RT-PCR 法にて定量した。その結果、EGF は MER を増殖させ、VEGF の分泌を促すことによって歯根膜の恒常性維持に寄与している。また、NGF は osteopontin、BMP-2、VEGF の発現を抑制していることからアンキローシスを含む歯根膜内の骨様石灰化を抑制するように働き、恒常性維持に関与しているという内容であった。

本審査委員会は、平成21年2月24日に行われ、まず山脇健史大学院生から論文内容の説明がなされた。その後、各審査委員より次のような質問がなされた。1) MER の生体内での働きについて、2) 細胞の接着と増殖との関連について、3) OPN、BMP-2、VEGF を PDL の恒常性維持機構の評価に用いた理由、などの質疑が行われたが、概ね妥当な回答が得られた。その他、結論での表現、考察の追加、参考文献の整理等、修正すべき点を指摘された。

その結果、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。