

Title	Scgb1a1, Lpo and Gbp2 is Characteristically Expressed in Rat Peri-Implant Epithelium
Author(s)	守, 源太郎
Journal	, (): -
URL	http://hdl.handle.net/10130/3404
Right	

氏名	守 源太郎
学位	博士（歯学）
学位記番号	第2044号（甲 第1278号）
学位授与年月日	平成26年 3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項
論文審査委員	主査 山本 仁 教授 副査 井上 孝 教授 副査 矢島 安朝 教授 副査 村松 敬 教授
学位論文名	Scgb1a1, Lpo and Gbp2 is Characteristically Expressed in Rat Peri-Implant Epithelium

学位論文内容の要旨

1. 研究目的

インプラント周囲上皮（PIE）において特異的に発現している遺伝子の同定が PIE の恒常性・免疫機構の解明に繋がると考えられ、物理的な封鎖性の強化のみならず炎症の発現に関連した遺伝子の発現抑制や自然免疫機能の強化といった新たな治療法への応用が期待できる。本研究の目的は網羅的に遺伝子発現を解析できる Microarray 法を用い付着上皮（JE）と比較し PIE に特異的に発現している遺伝子を同定することである。

2. 研究方法

S-D 系雄性ラットの上顎左側第一臼歯を抜歯し、即時にインプラント（φ1.55×4mm:チタン合金）を埋入した。ラットは埋入4週後に屠殺し、凍結試料作製後レーザーマイクロダイセクション法を用いて PIE 及び反対側の天然歯：JE を採取した。採取した組織から Total RNA を抽出し、マイクロアレイ法にて解析を行った。GeneChip® は Rat Genome 230 2.0 Array を使い、解析には GeneSpring GX Ver12 を使用した。up-regulate した遺伝子：*Scgb1a1*, *Lpo*, *Gbp2* に対して遺伝子の発現差を確認するため定量的 RT-PCR を行い、さらにタンパクレベルでの発現と組織内での局在を確認するため免疫組織化学染色を行った。本研究は東京歯科大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された。

3. 研究成績および考察

Microarray 解析の結果、JE と比較し PIE にて up-regulate した遺伝子は 712 種類、down-regulate し

た遺伝子は 567 種類であった。最も up-regulate した遺伝子として *Scgb1a1*, *Lpo*, *Ifitm1*, *Pla2g2*, *Gbp2*, *Nppb* が認められ、down-regulate した遺伝子には *Map3k7*, *Krt10*, *Mboat2* が認められた。RT-PCR の結果、*Scgb1a1* が 22.1 倍、*Lpo* が 21.2 倍、*Gbp2* が 9.6 倍と有意に高く発現していた。免疫組織化学染色の結果、SCGB1A1 は PIE のすべての層が陽性反応を呈し、JE の一部に弱い陽性反応を示した。LPO は PIE のインプラント体と接している細胞と中間層に強い陽性反応を示し、JE においては陽性反応を示さなかった。GBP2 は PIE と JE の一部に陽性反応を示した。

Scgb1a1 は好中球の機能や走化性、細胞移動を抑制したとする報告があることから、PIE における好中球の制御、上皮細胞の細胞移動に関与している可能性がある。*Lpo* は細胞が受ける酸化ストレスを中和・軽減する作用や、抗菌性を有していることが証明されていることから、PIE はインプラントによる酸化ストレスを軽減しながら、抗菌ペプチドを分泌し細菌に対し抵抗性を示している可能性がある。*Gbp2* は間接的に MMP-9 を抑制する作用を有する。MMP-9 は上皮組織のリモデリングに重要な因子であり、PIE のリモデリングに関与している可能性がある。

4. 結論

Scgb1a1, *Lpo*, *Gbp2* は PIE において特異的に発現している遺伝子である可能性が示唆された。

最終試験の結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第1278号	氏名	守 源太郎
最終試験担当者	主 査	山本 仁	教 授
	副 査	井上 孝	教 授
		矢島 安朝	教 授
		村松 敬	教 授
最終試験施行日	平成26年 1月28日		
試験科目	口腔インプラント学		
試験方法	口頭試問		
試験問題	主題ならびに関連問題		
<p><u>結果の要旨</u></p> <p>本審査委員会は主題ならびに関連問題について最終試験を行った結果、十分な学識を有することを認め、合格と判定した。</p>			

学位論文審査の要旨

インプラント周囲組織は歯周組織と比較して多くの異なる点を有しているが、分子生物学的な付着上皮 (JE) とインプラント周囲上皮 (PIE) の違いについての知見は少ない。そこで光学顕微鏡下で対象組織のみのサンプリングが行える Laser microdissection 法と網羅的に遺伝子解析を行うことができる Microarray 法を用いて PIE に特異的に発現する遺伝子の同定を行った。その結果、JE と比較して PIE では Scgb1a1 が 22.1 倍、Lpo が 21.2 倍、Gbp2 が 9.6 倍と高く発現していた。さらにこれらは免疫組織化学によりタンパクレベルでも PIE 内に発現することが確認された。以上の結果から Scgb1a1、Lpo、Gbp2 は PIE に特異的に出現する遺伝子であることが示唆された。

本審査委員会では 1. 口腔粘膜 (OE) ではなく JE を対照群とした理由、2. Microarray 解析において、例えば「接着関連遺伝子」、「炎症関連遺伝子」のように機能により対象とする遺伝子を選択するのではなく、得られた Fold 値から対象とする遺伝子を選択した理由、3. インプラントの埋入期間を 4 週としているが、埋入期間の設定は適切であったか、などについて質問があった。これらの質問に対して 1. OE を対照群とした PIE の遺伝子発現についてはすでに行われている。また JE を対照群とすることで JE と PIE それぞれに特異的な防御因子が特定できると考えた、2. 網羅的に遺伝子解析を行うことができる Microarray 法を用いることで、想定以外の機能を有する遺伝子を検出する可能性があったため、Fold 値から対象とする遺伝子を選択した、3. これまでの研究によりラットでは埋入 4 週で PIE は成熟、安定するとされているので、特に問題はないと考えるが、埋入 4 週以降の経時変化については今後検討する必要がある、との回答があった。またタイトルを含めた英語表記、えられた所見の分析、文献で用いられた実験動物の文中での表記、などについて指摘があった。

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、学位授与に値すものと判定した。