

Title	マイクロアレイ法を用いたインプラント周囲結合組織の特異的遺伝子の解析
Author(s)	小林, 孝誌; 佐々木, 穂高; 守, 源太郎; 真壁, 康; 吉成, 正雄; 矢島, 安朝
Journal	歯科学報, 117(3): 260-260
URL	http://hdl.handle.net/10130/4284
Right	
Description	

No.11: wnt シグナル経路と FGF 8 の相互作用による象牙芽細胞分化機序の検討

木村基善¹⁾, 東 俊文²⁾, 新谷誠康¹⁾ (東歯大・小児歯)¹⁾ (東歯大・生化)²⁾

目的: wnt シグナル経路は歯の発生において活性化が確認されている。また, FGF 8 は歯の発生における重要なサイトカインとして機能することが報告されている。しかし, これらがどのように象牙芽細胞の分化メカニズムに関与しているかは明らかにされていない。本研究では出生直後の DMP 1-EGFP コンディショナルトランスジェニックマウスの歯胚を用い, wnt シグナル経路と FGF 8 の相互作用が及ぼす影響を検討することを目的とした。

方法: Cre-loxP 組換えにより DMP 1 の存在下で EGFP を発現するコンディショナルトランスジェニックマウスを作製した。出生後24時間以内に第一臼歯部歯胚を回収し, Collagenase I 及び Trypsin-EDTA を用いて細胞を単離させ播種した。サイトカインとして wnt シグナル経路を活性化させる wnt 3 a, wnt 5 a, GSK inhibitor と FGF 8 を添加し, 最大3週間培養し, Real-time PCR 法により mRNA 発現量の解析を行った。また, フローサイトメーターにて EGFP 陽性及び陰性細胞の単離を行い, Real-time PCR 法及び蛍光免疫染色にて評価を行った。

結果: wnt 3 a 及び GSK inhibitor を添加した場合において Dmp 1 の mRNA 発現量の亢進が認められた。蛍光免疫染色では EGFP の発現および β -catenin の核への移行が確認された。wnt 5 a 刺激では同様の所見は得られなかった。FGF を添加した場合には, GSK inhibitor と併用した場合に DMP 1, DSPP 及び Nestin の mRNA 発現量に亢進が認められ, 同時に MMP20 の mRNA 発現量の低下が認められた。フローサイトメーターで選別した細胞にそれぞれ蛍光免疫染色を行うと EGFP 陽性細胞では EGFP の発現の亢進と β -catenin の核への移行が認められた。

考察: DMP 1 の発現において wnt シグナル経路の関与が確認され, 歯胚から象牙芽細胞への分化においては wnt シグナル経路における, 特に β -catenin 依存性経路が重要であることが示唆された。更に FGF 8 との相互作用によってその分化は増強されることが明らかとなった。一方, wnt 5 a 刺激による非古典的経路の関与は明確でない為, 今後更なる検討を行っていく予定である。

No.12: マイクロアレイ法を用いたインプラント周囲結合組織の特異的遺伝子の解析

小林孝誌¹⁾²⁾, 佐々木穂高¹⁾²⁾, 守 源太郎¹⁾²⁾, 眞壁 康¹⁾, 吉成正雄²⁾, 矢島安朝¹⁾
(東歯大・口腔インプラント)¹⁾ (東歯大・口科研)²⁾

目的: インプラント周囲結合組織 (PICT) は, 天然歯と同様に自然免疫機能が存在する一方で, 免疫学的な脆弱性に関連する因子も多く報告されており, 粘膜貫通部の防御能は弱いことが示唆されている。また, 過去の研究では, PICT の病理組織学的な検討は行われているが, その分子生物学的な機能については未だ解明されていない。近年, 遺伝子に着目した治療法の開発が進められており, 特異的遺伝子の同定によって, 病態を把握し新しい治療法へ繋がる可能性が考えられている。本研究は, インプラント粘膜貫通部のより強固な防御機構を確立するためのパイロットスタディとして, マイクロアレイ法による網羅的な遺伝子解析を行い, PICT の特異的遺伝子を同定することを目的とした。

方法: 本実験では S-D 系ラット (雄性 5 週齢) を用いた。実験群は, ラットの上顎第一臼歯を抜歯後, 即時に, インプラント体を埋入し, 術後 4 週後に PICT を採取した。対照群は, 上顎第一臼歯を抜歯して 4 週間後の口腔粘膜上皮結合組織 (OMCT), 9 週齢の上顎第一臼歯部の歯周結合組織 (PCT) の 2 群とした。各群の薄切標本を製作後, レーザーマイクロダイセクションにて組織採取し, 抽出した

total-RNA を用いて, マイクロアレイ解析を行った。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。(承認番号: 283003)

結果: マイクロアレイ解析の結果, 両対象群と共通して PICT で Fold 値 2.0 以上に発現上昇した遺伝子は 327 個, 発現下降した遺伝子は 330 個, 合計で 657 個が認められた。さらに, PICT で著しく特異的に発現変化した遺伝子 (Fold 値 5.0 以上) として, 発現上昇した遺伝子は 7 個, 発現下降した遺伝子は 4 個の合計 11 個が抽出された。

考察: 本研究で抽出された, 両対象群と共通して PICT で著しく発現変化した遺伝子には, 過去の報告より, 慢性歯周炎の患者で発現上昇を認めた Lbp, インプラント関連骨髄炎で関連性がある Cxcl 2, コラーゲン線維の安定化に寄与する Dpt, 酸化ストレスにからの保護に関連する Sod 3 などが認められた。このことから, PICT で特異的に発現変化した遺伝子には, 脆弱性に関与するものが多く含まれており, これらの遺伝子の発現を調整し, 機能させることで組織の構造, 恒常性, 防御機構が維持されている可能性が示唆された。