

Title	22 : Treponema denticola の環境ストレス応答機構の解明
Author(s)	深澤, 俊也; 北村, 友里恵; 菊池, 有一郎; 国分, 栄仁; 齋藤, 淳; 石原, 和幸
Journal	歯科学報, 120(2): 213-213
URL	http://hdl.handle.net/10130/5190
Right	
Description	

No.22: *Treponema denticola* の環境ストレス応答機構の解明

深澤俊也¹⁾²⁾, 北村友里恵¹⁾, 菊池有一郎²⁾³⁾, 国分栄仁²⁾³⁾, 齋藤 淳¹⁾²⁾, 石原和幸²⁾³⁾
 (東歯大・歯周)¹⁾ (東歯大・口科研)²⁾ (東歯大・微生物)³⁾

目的: 口腔内において, 細菌は環境ストレスに曝されている。これに対する応答は, 細菌の遺伝子発現調節により行われている。*Treponema denticola* は重度慢性歯周炎患者の歯周ポケット内から高頻度に検出される。本菌が生存し病原性を発揮する際にも様々な環境ストレスに順応している。我々はその1つである低栄養ストレス下での *T. denticola* の培養において, TDE_1382を含む複数の遺伝子の発現変化が起きることを報告している。そこで, 本研究の目的は, *T. denticola* の環境ストレス応答における TDE_1382の役割について検討することとした。

方法: *T. denticola* ATCC 35405株(野生株)を供試し, エリスロマイシン耐性遺伝子の相同組み換えにより TDE_1382の遺伝子欠損株を作出した。DNA マイクロアレイにより欠損株の遺伝子発現の変化を解析した。低栄養ストレス下での増殖能について1%, 10%, 20%血清添加培地(TYGVS)で培養し, 各タイムポイントで濁度を測定した。同様に, 低栄養ストレス下での dentilisin とアルギニン特異的オリゴペプチダーゼ活性について, 合成基質

(SAAPNA と BAPNA) を用いて測定した。さらに, 酸素, 低浸透圧, 温度ストレス下で培養後, ATP の蛍光強度により生菌数を測定した。

結果: 今回, 初めて *T. denticola* TDE_1382欠損株の作出に成功した。マイクロアレイ解析では, TDE_1382欠損株において, 環境ストレスに応答する可能性のある遺伝子群の発現に変化が認められた。1%TYGVSにおいて, 欠損株の濁度は, 培養後24~96時間で有意に低い値を示した。欠損株の dentilisin 活性は, 1%TYGVSにおいて, 野生株と比較して約45%減少した。酸素ストレス下での生菌割合は曝露後1, 2時間で野生株と比較して欠損株で有意に減少し, 温度ストレスでは上昇したが, 低浸透圧条件下では差がなかった。

考察: *T. denticola* TDE_1382は低栄養状態ストレス下での本菌の増殖と dentilisin 活性, および酸素, 温度ストレス下での生存に関わることが示唆された。今後, 本遺伝子がどのようなメカニズムを介してこれらの応答に関与するかについて, 解析を行っていく。

No.23: メカニカルストレスは FGF 2 による細胞増殖を介して骨形成を促進し

Apert 症候群発症に関与する

小倉弘之¹⁾, 中村 貴²⁾, 石井武展¹⁾, 齋藤暁子²⁾, 小野寺晶子²⁾, 西井 康¹⁾, 東 俊文²⁾
 (東歯大・矯正)¹⁾ (東歯大・生化)²⁾

目的: Apert 症候群は頭蓋骨早期癒合と骨性合指を特徴とする遺伝性疾患で, FGFR 2 遺伝子の機能亢進型変異による骨芽細胞分化促進が原因とされている。しかし Apert 症候群の骨形成亢進は頭蓋骨や手指に限局し観察されることから, 発症には FGFR 2 遺伝子の変異に加え, 局所で機能する未知因子の介在が想定され, 骨癒合部位の特徴からメカニカルストレスが骨形成異常の一因となる可能性が考えられた。そこで本研究ではメカニカルストレスと Apert 症候群発症の関連を調べるとともに, 局所的な骨形成促進因子の同定を試みた。

方法: 実験材料としてヒト間葉系幹細胞 (hMSC) を用いた。培養細胞伸展システムを用いて伸展率 3%, 0.25Hz のメカニカルストレスを連続負荷し, qPCR 法による遺伝子発現解析と WST 1 法を用いた細胞増殖測定により骨芽細胞分化に与える影響を調べた。また Apert 症候群患者由来 cDNA ライブラリから野生型および変異型 FGFR 2 遺伝子をクローニング, レンチウイルスベクターを作成し遺伝子導入実験に用いた。

結果および考察: hMSC における FGF ファミリー

の発現変化を調べたところ, メカニカルストレス依存的な FGF 2 遺伝子の発現亢進が観察された。さらに, hMSC にメカニカルストレスを負荷して得た馴化培養液 (Conditioned medium) を用いて hMSC の培養を行ったところ, 細胞増殖が促進され, 抗 FGF 2 中和抗体の共存下で抑制された。次に FGF 2 と骨芽細胞分化の関連について調べたところ, FGF 2 は骨芽細胞分化初期において細胞凝集を促すことで骨芽細胞分化と石灰化結節の形成を促進した。次に Apert 症候群における骨形成異常とメカニカルストレスの関連を調べるために変異型 FGFR 2 の強制発現細胞株を作成し同様の解析を行ったところ細胞増殖の有意な上昇が確認できた。

以上の結果から, メカニカルストレスは FGF 2 遺伝子の発現上昇を介した細胞増殖を増強させることが明らかとなった。Apert 症候群患者頭蓋発生期におけるメカニカルストレスは FGF 2 の局所濃度上昇をきたし FGFR 2 変異による恒常活性化を相乗的に増強する。これらは主徴である限局的な骨癒合の原因となりうることを示すものである。