

Title	17 : 新規歯根膜幹細胞におけるマーカー遺伝子の同定
Author(s)	徳山, 彰秀; 伊藤, 慎一郎; 笠原, 正貴; 溝口, 利英
Journal	歯科学報, 123(2): 190-190
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/6226">http://hdl.handle.net/10130/6226</a>
Right	
Description	

## No.16: T細胞が関連する炎症応答における TSPO(18kDa Translocator protein)の役割

千代侑香<sup>1)</sup>, 松浦信孝<sup>1)</sup>, 片倉 朗<sup>2)</sup>, 東 俊文<sup>3,4)</sup>, 一戸達也<sup>1)</sup>, 大野建州<sup>3)</sup> (東歯大・歯麻)<sup>1)</sup>  
(東歯大・口腔病態外科)<sup>2)</sup> (東歯大・口科研)<sup>3)</sup> (東歯大・生化)<sup>4)</sup>

**目的:** TSPO はトランスロケータータンパク質であり, 多様な細胞のミトコンドリア外膜に発現し, ステロイド生合成, コレステロール輸送やアポトーシス誘導などに参与している。最近, 我々は T細胞依存的に誘導される接触型過敏症 (CHS) マウスモデルにおいて, TSPO アゴニスト (Ro5-4864) 投与が皮膚炎症を抑制することから, TSPO が同モデルの病態を負に制御していることを報告した。本研究では, TSPO がどのように CHS を抑制するのか, そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

**方法:** T細胞依存的に誘導される DNFB ハプテン誘導性 CHS マウスモデルにおいて, 腹部皮膚への DNFB 感作時に, Ro5-4864 を腹腔内投与した。感作時 Ro5-4864 投与による所属リンパ節中の T細胞活性への影響をフローサイトメトリー法で解析した。次に, Ro5-4864 を投与したマウス由来の T細胞をナイーブマウスに移入し, DNFB チャレンジ後の耳介腫脹を評価した。さらに, Ro5-4864 投与による CHS 抑制効果が抗原提示細胞を介しているのか, または T細胞に直接的な作用であるのかを明らかにするため, Ro5-4864 投与をしてい

ない, あるいは投与したマウス由来抗原提示細胞と T細胞を共培養し, T細胞増殖を評価した。また, *in vitro* の骨髄由来培養樹状細胞 (BMDCs) および T細胞への Ro5-4864 添加による, 抗原提示関連マーカー発現と T細胞の増殖および ATP 産生を評価した。本研究は東京歯科大学動物実験委員会 (承認番号: 234104) での承認を得た。

**結果および考察:** 感作時 Ro5-4864 投与によって所属リンパ節中の T細胞活性は抑制された。また, 感作時に Ro5-4864 投与したマウス由来 T細胞の移入は, Ro5-4864 非投与マウス由来 T細胞の移入と比較して, 抗原チャレンジ後の耳介腫脹が緩和された。共培養実験では, Ro5-4864 投与マウス由来 T細胞の増殖が, 非投与マウス由来 T細胞よりも抑制されていたが, Ro5-4864 投与は抗原提示細胞による T細胞増殖に影響を与えなかった。また, Ro5-4864 添加は BMDCs 上の抗原提示関連分子である CD86 や MHC class II の発現量に影響を与えなかった。さらに, Ro5-4864 添加は T細胞の増殖と ATP 産生を抑制した。これらから T細胞上の TSPO がハプテン誘導性 CHS の病態を負に制御していることが示唆された。

## No.17: 新規歯根膜幹細胞におけるマーカー遺伝子の同定

徳山彰秀<sup>1)</sup>, 伊藤慎一郎<sup>1)</sup>, 笠原正貴<sup>1)</sup>, 溝口利英<sup>2)</sup> (東歯大・薬理)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研)<sup>2)</sup>

**目的:** 抜歯窩の修復骨形成には骨芽細胞の供給が必要である。骨芽細胞は抜歯に伴う刺激により, 間葉系幹・前駆細胞から分化し抜歯窩に遊走することが示唆されているが, この過程で機能する幹細胞の由来については一致した見解が得られていない。一方, 抜歯窩修復骨に寄与する幹細胞画分の候補として, 歯根膜 (PDL) 幹細胞が知られている。近年, PDL 幹細胞マーカーとして Axin2 (Wnt シグナル分子) および Gli1 (Hh シグナル分子) が見出され, これらの分子を発現する PDL 細胞が抜歯窩の骨形成に寄与することが報告された。そこで我々は, Axin2 または Gli1 陽性の PDL 幹細胞の抜歯窩修復骨における骨細胞への寄与を, 細胞系譜解析により調べ, それらを定量比較することにより, 骨修復に精力的に寄与する幹細胞画分を見出すことを目的とした。

**方法:** 全身の細胞が Tomato 蛍光で標識されるマウス (Rosa26-creERT2; Rosa26-flox-stop-flox-Tomato (R26; R26-Tom)) と野生型マウスから並体結合モデルを作成し, 血流由来の幹細胞の抜歯窩修復骨への寄与を調べた。また, Axin2 と Gli1 が発現した PDL 幹細胞が Tomato 蛍光で標識される遺伝子改変マウス (Axin2-creERT2 (Axin2); R26-Tom, Gli1-creERT2 (Gli1); R26-Tom) を作製した。以上の遺伝子改変マウスの上顎第一臼歯を抜去し, 7日後に抜歯窩修復骨の凍結切片を作製し, 共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。修復骨中の全骨細胞に対する Tomato 陽性骨細胞の割合から Axin2<sup>+</sup> および Gli1<sup>+</sup> PDL 幹細胞

の抜歯窩への寄与率を比較した。この際, R26; R26-Tom をポジティブコントロールとして使用した。

**結果:** 並体結合マウス実験では, 野生型マウスの抜歯窩修復骨中に血流に由来する Tomato 陽性の骨細胞は認められなかった。

抜歯後 7 日の修復骨中の骨細胞への寄与率の評価では, ポジティブコントロールの R26; R26-Tom が約 60% に対し, Axin2; R26-Tom は約 10%, Gli1; R26-Tom は約 8% であった。また, Axin2; R26-Tom と Gli1; R26-Tom には有意差は認められなかった。

**考察:** 血流から遊走した間葉系幹・前駆細胞が修復骨に寄与する可能性が示唆されている。しかしながら, 本並体結合マウス実験により抜歯窩に供給される修復骨形成細胞が歯周組織局所に由来することが示された。一方, 抜歯窩修復骨への寄与が報告されている Axin2<sup>+</sup> および Gli1<sup>+</sup> PDL 幹細胞の抜歯窩への寄与は限定的なものであった。同様に, PDL に局在する LepR<sup>+</sup> (レプチン受容体) 細胞が抜歯窩修復骨の骨細胞に分化するものの, その寄与率が約 10% であることを見出している (Sci Rep 13: (1) 3443, 2023)。以上の結果は, Axin2, Gli1, LepR 陽性 PDL 細胞が (1) 併行して修復骨形成に寄与する, (2) もしくは, これ以外の未知の PDL 幹細胞画分が精力的に抜歯窩の修復骨形成を担うことを示唆するものである。現在, 我々は新たな PDL 幹細胞の同定に取り組んでいる。