

容体依存的であることを確認した。

3) LPS は、合剤による ALP mRNA 発現誘導効果を濃度依存的に抑制したが、合剤に TGF- β 1 を加えた刺激で増強された ALP mRNA 発現誘導効果には影響を及ぼさなかった。また、合剤による ALP mRNA 発現誘導効果に対する LPS の阻害作用は、シグナル伝達分子 NF- κ B 依存的であることが明らかとなった。

4) LPS は、合剤の刺激で誘導した ERK のリン酸化と、合剤と TGF- β 1 同時刺激により増強して誘導した ERK のリン酸化の両方を阻害することが明らかとなった。

5) 合剤による ALP mRNA 発現誘導効果と、この合剤と TGF- β 1 同時刺激による ALP mRNA 発現増強効果は、ERK と同じく mitogen-activated kinase (MAPK) ファミリーに属するシグナル伝達分子 c-jun N-terminal kinase (JNK) ならびに p38 MAPK 依存的でもあることが明らかとなった。

6) 合剤刺激、あるいは合剤に低濃度 (1~3 ng/mL) の TGF- β 1 を加えた刺激では TGF- β 1 mRNA 発現量の変化は認められないが、高濃度 (5 ng/mL) の TGF- β 1 を加えた刺激では TGF- β 1 mRNA 発現量が上昇した。

考察: 1) LPS は、合剤で誘導する ERK の活性化を介したヒト MSC の骨芽細胞分化誘導効果を NF- κ B 依存的に抑制することが明らかとなった。

2) 合剤に TGF- β 1 を加えた刺激により増強されたヒト MSC の骨芽細胞分化誘導効果には、LPS は抑制作用を示さないことが明らかとされた。一方、LPS はこの合剤に TGF- β 1 を加えた刺激で増強された ERK の活性化を低下させることから、TGF- β 1 による骨芽細胞分化増強作用の発現には ERK 以外のシグナル伝達分子が重要な役割を果たしていると推察された。また、TGF- β 1 による骨芽細胞分化増強効果は、ERK 以外の MAPK である JNK や p38 MAPK 依存的であることも判明した。この結果より、TGF- β 1 刺激によるヒト MSC の骨芽細胞分化増強作用が LPS の影響を受けないのは、JNK や p38 MAPK などの ERK 以外の分子を介したシグナルが関与する分子メカニズムによるものと予測されるが、今後のさらなる調査で明らかとしたい。

3) 合剤の単独刺激や合剤と低濃度 TGF- β 1 との同時刺激では TGF- β 1 mRNA 発現量には影響がないが、この合剤と高濃度 TGF- β 1 との同時刺激では TGF- β 1 mRNA 発現量が有意に上昇することから、MSC から骨芽細胞への分化が進行した細胞では TGF- β 1 の産生量が増加する可能性が示唆された。よって、グラム陰性菌の感染による歯周炎の患部では、その周囲組織中に存在する MSC に対する外来的な TGF- β 1 の投与があれば、MSC の骨芽細胞分化誘導と、その分化後の骨芽細胞より発現・分泌される TGF- β 1 による連鎖的な MSC の骨芽細胞分化誘導作用が起こることが示唆された。

結論: 本研究により、TGF- β 1 は、LPS で誘導するヒト MSC の骨芽細胞分化抑制作用を解除すると共に、この細胞のさらなる骨芽細胞分化を促進する性質を有することが明らかとなった。このように、TGF- β 1 は、根尖性あるいは辺縁性歯周炎に伴い失われた歯槽骨の再生に応用できるものとして期待される。

3 マウス付着上皮細胞培養法と細胞株樹立～ 歯周バリア向上に向けた取り組み～

Establishment of mouse junctional-epithelium cell culture and cell line

○池崎 晶二郎, 熊上 (坂野) 深香,
大津 圭史, 原田 英光

岩手医科大学解剖学講座発生物・再生
医学分野

目的: 付着上皮 (Junctional Epithelium) は、歯肉溝底部においてエナメル質および結合組織と接着し上皮バリアを形成する構造である。このバリア構造の障害や欠損は歯周炎やインプラント周囲炎の病態形成において重要な起因の一つである。しかしながら、エナメル質に対する接着分子機構や細胞の特性には不明な点が多く、これらを解明するために付着上皮の細胞培養系ならびに細胞株の樹立を試みた。

材料・方法: 上皮細胞特異的に蛍光タンパクを発現するトランスジェニックマウス

(K14Cre;tdTomato) より臼歯を抜去し、エナメル質に付着する上皮組織部分の分離・培養を行った。培養細胞はシングルセルクローニングを行い候補株を作成し、アパタイト接着能・接合上皮マーカーの発現等を条件にスクリーニングを行い細胞株の絞り込みを行った。

結果：付着上皮細胞候補株は、アパタイト処理済みの培養皿に対して接着能を持ち、免疫細胞染色で付着上皮マーカー分子 (ODAM, Amelotin, FDC-SP, Nephronectin) の発現を認

めた。

考察：選別中の細胞株ではマウス組織と同様にカルシウム結合タンパクを発現しており付着上皮細胞である可能性が高いと考える。今後はマーカー分子の発現をウエスタンブロッティングや RT - qPCR により確認していく予定である。作成した付着上皮細胞株は上皮-エナメル質接着によるバリア構築メカニズムを *in vitro* で解析するためのツールになると期待される。