

論文内容の要旨

EGF Positively Regulates the Proliferation and Migration, and Negatively Regulates the Myofibroblast Differentiation of Periodontal Ligament-Derived Endothelial Progenitor Cells through MEK/ERK- and JNK-Dependent Signals.

—上皮成長因子が歯周靭帯由来血管内皮前駆細胞に MEK/ERK、 JNK シグナルを介して増殖能と遊走能に促進的に働き、その筋線維芽細胞分化に抑制的に働く—

(Cellular Physiology and Biochemistry 第 32 巻、899 頁～914 頁、平成 25 年 9 月)

きむら ひとみち
木村 仁迪

I. 研究目的

人為的な歯の移動に伴い、その歯根周囲の歯周靭帯 periodontal ligament (PDL) では、線維組織あるいは血管組織のリモデリングが観察される。これまでに我々は、ラット PDL 由来初代培養細胞から派生した single cell-derived culture 2 (SCDC2) が、血管内皮前駆細胞 endothelial progenitor cell (EPC) として働いて三次元培養下で血管様管腔構造を形成することを明らかとした。本研究では、上皮成長因子 epidermal growth factor (EGF) により活性化される各 mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナルが、SCDC2 細胞の増殖、遊走性ならびに筋線維芽細胞（線維組織形成性細胞）分化に与える影響について調査した。

II. 研究方法

EGF が SCDC2 細胞の細胞増殖に与える影響について、WST-1 Cell Proliferation Assay System により調査した。また、EGF による各 MAPK シグナル伝達物質の活性化について、抗リン酸化 MAPK 特異的抗体を用いたウエスタンブロット法にて調査した。また細胞膜上のインテグリンに結合したコラーゲン塗布マグネットビーズに磁力を作用させて生じる牽引力の影響が、この細胞の筋線維芽細胞分化に与える影響について、ウエスタンブロット法と定量的 RT-PCR 法により調査した。さらに、これらの EGF による効果が、各 MAPK シグナル伝達分子阻害剤により影響されるかについて調査した。

III. 研究成績

EGF は、MAPK に属する extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-jun N-terminal kinase (JNK) 依存的に、SCDC2 細胞の増殖を促進した。また EGF は、ERK 依存的に、この細胞の遊走能を促進した。加えて、EGF は、牽引刺激や TGF- β 1 刺激により誘導される筋線維芽細胞マーカーの発現を ERK 依存的に抑制した。

IV. 考察及び結論

結合組織中の未分化間葉系細胞が組織形成能力を発現するためには、この細胞の増殖能力、遊走能力ならびに分化能力が必要となる。本研究では、EGF が PDL 由来筋線維芽細胞前駆細胞としての EPC の増殖を促進することや、EPC の遊走性を昂進することを明らかとした。加えて、EGF は、PDL 由来 EPC の筋線維芽細胞分化を抑制した。この、筋線維芽細胞は、人為的な歯の移動に伴う PDL 組織のリモデリングの際に、I 型コラーゲン線維形成性細胞として重要な働きを担うことが報告されている。今回の研究に

より、EGF が PDL 中に存在する EPC の増殖や遊走を促進し、またこの細胞の筋線維芽細胞分化を負に制御することで、歯周靭帯中の I 型コラーゲン線維含有量に影響すると考えられる。特に、本研究では、EGF が、PDL 由来 EPC を牽引刺激した際に認められる筋線維芽細胞分化誘導を負に制御することを発見しており、EGF が PDL 組織のリモデリングを調節して、人為的な歯の移動を制御する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 加藤 裕久 (薬理学講座 病態制御学分野)
副査 教授 石崎 明 (生化学講座 細胞情報科学分野)
副査 教授 三浦 廣行 (口腔保健育成学講座 歯科矯正学分野)

人為的な歯の移動に伴い、その歯根周囲の歯周靭帯 periodontal ligament (PDL) では、線維組織あるいは血管組織のリモデリングが観察される。木村が本学大学院歯学研究科博士課程における課題研究を遂行した研究室では、他の研究者による以前の報告により、ラット PDL 由来初代培養細胞から派生した single cell-derived culture 2 (SCDC2) は血管内皮前駆細胞 endothelial progenitor cell (EPC) として働いて三次元培養下で血管様管腔構造を形成することが明らかとされている。またこの以前の報告では、SCDC2 細胞が血管内皮細胞 endothelial cell (EC) マーカーに加え、筋線維芽細胞 (I 型コラーゲン線維産生性細胞) マーカーも同時に発現することが示されている。

今回木村らは、上皮成長因子 epidermal growth factor (EGF) により活性化される各 mitogen-activated protein kinase (MAPK) シグナルが、SCDC2 細胞の増殖、遊走性ならびに筋線維芽細胞マーカーの発現に与える影響について調査した。その結果、EGF は MAPK に属する extracellular signal-regulated kinase (ERK)、c-jun N-terminal kinase (JNK) 依存的に、SCDC2 細胞の増殖を促進した。また、EGF は、ERK 依存的に、この細胞の遊走能を促進した。加えて EGF は、牽引刺激や TGF- β 1 刺激により誘導される筋線維芽細胞の分化マーカーの発現を ERK 依存的に抑制した。

結合組織中の未分化間葉系細胞が間葉系組織形成能力を発現するためには、この細胞の増殖能力、遊走能力ならびに分化能力が必要となる。今回木村らは、EGF が PDL 由来筋線維芽細胞前駆細胞としての EPC の増殖を促進し、EPC の遊走性を昂進することを明らかとした。また加うるに、PDL 由来 EPC に対する牽引刺激や TGF- β 刺激による筋線維芽細胞分化を EGF が負に制御することを明らかとした。これらの事実は、人為的な歯の移動に伴う PDL 組織のリモデリングの際に、EGF 刺激が PDL 中の I 型コラーゲン線維含有量に影響するものと考えられた。

以上の研究成果により、EGF が PDL 組織中の線維組織のリモデリングを調節して、人為的な歯の移動を制御する可能性が示唆された。このように、歯科矯正治療時の歯の移動における PDL 組織リモデリングの新たな分子メカニズムを解明した本研究は、博士 (歯学) としての学位に値すると判断された。

試験・試問結果の要旨

本研究の目的、概要について説明がなされ、研究方法、結果や考察に対する試問に適切な回答がなされていた。よって、学位に値する学識と研究能力を有すると判断した。

参考論文 なし