

MCP-1 は fibrocytes を標的組織に遊走させる代表的な因子のひとつであることから、顎関節病変において fibrocytes が患部に遊走され炎症の増大または拡大に関与している可能性が示唆された。

<発表論文>

Komatsu Y., Ibi M., Chosa N., Kyakumoto S., Kamo M., Shibata T., Sugiyama Y., Ishisaki A., Zoledronic acid suppresses transforming growth factor- $\beta$ -induced fibrogenesis by human gingival fibroblasts possibly through the down-regulation of its type I receptor expression. *Int. J. Mol. Med.* 38(1):139-47, 2016 Jul.

Saito D., Kyakumoto S., Chosa N., Ibi M., Takahashi N., Okubo N., Sawada S., Ishisaki A., and Kamo M. Transforming growth factor- $\beta$ 1 induces epithelial-mesenchymal transition and integrin  $\alpha$ 3 $\beta$ 1-mediated cell migration of HSC-4 human squamous cell carcinoma cells through Slug. *J. Biochem.* 153(3), 303-315, 2013.

<学会発表>

衣斐美歩、堀江沙和、帖佐直幸、吉田茉莉子、加茂政晴、客本斉子、大塚正人、佐原資謹、藤村 朗、石崎 明、弘瀬雅教 顎関節部での炎症発症時における周囲組織細胞と血球系細胞との相互作用 第54回 日本薬学会東北支部大会(岩手医科大学 岩手) 2015年9月26日(ポスター発表)

衣斐美歩、堀江沙和、帖佐直幸、吉田茉莉子、加茂政晴、客本斉子、大塚正人、佐原資謹、藤村 朗、石崎 明、弘瀬雅教 顎関節炎症部位における顎関節周囲組織細胞と血球系細胞との相互作用 第658回 岩手医学会(岩手医科大学 岩手) 2015年5月20日(口頭発表)

衣斐美歩、堀江沙和、帖佐直幸、吉田茉莉子、加茂政晴、客本斉子、大塚正人、佐原資謹、藤村 朗、石崎 明 ファイブロサイトに注目した顎関節領域疾患発症機構の解明 第56回 歯科基礎医学学会学術大会・総会(福岡国際会議場 福岡) 2014年9月25-27日(ポスター発表)

大学院歯学研究科第3学年研究発表会

1. 血小板活性化による基底膜を介した歯肉上皮細胞のチタン表面への接着

○菅原 志帆, 近藤 尚知, 前野 雅彦\*, 永井 成美\*, 永井 雅純\*

補綴・インプラント学講座, Harvard School of Dental Medicine\*

背景・目的: インプラント補綴の長期的安定のためには、骨とインプラント体のオッセオインテグレーションのみならず、アバットメントへの軟組織の機能的かつ強固な接着が重要と考えられている。しかしながら現状では、アバットメント上に基底膜を介した上皮接着は獲得されておらず、課題となっている。一方、活性化された血小板は、上皮細胞の遊走、付着および増殖活性因子の分泌を介し、上皮の再生を促すことが報告されている。本研究においては、血小板活性化能を有するペプチドを応用し、チタン表面に基底膜を介した上皮細胞の接着を誘導することを目的とした。

方法: 1. チタン表面への血小板活性化機能を有するペプチドの固定

チタン片(10×10×0.05mm)表面にホスホン酸リンカーを介して血小板活性化能を持つペプチド(protease activated receptor-4 activating peptide: PAR4-AP)を固定した(処理群)。

2. チタン表面上で活性化された血小板が分泌する上皮誘導因子の分析

ペプチドを固定したチタン表面上に platelet-rich plasma (PRP) を播種し、血小板の凝集動態を経時的に total ATP で測定した。1時間の培養後、platelet fibrin clot (PFC) 形成を走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察し、活性化された血小板から分泌された上皮誘導因子(EGF, IGF-1, TGF- $\beta$ , VEGF)をELISAで分析した。

3. チタン表面への上皮細胞接着の分析

不死化ヒト歯肉上皮細胞 OBA-9 をチタン-PFC 上に播種し、48時間培養した。接着細胞数を、DNA 染色を用いて経時的に測定した。上皮細胞の超微細構造をSEMにて観察し、免疫組織化学染色により基底膜の接着タンパク質

である Laminin-5 および 細胞間接着因子である ZO-1 を Confocal Microscope にて観察した。さらに培養上清中に分泌された抗菌ペプチドである LL37, および PFC 分解能を持つ線溶系プロテアーゼである tPA を ELISA で測定した。また, Laminin-5 陽性面積と核面積を ImageJ (Image Processing Program) にて測定した。

結果：1. 処理群では血小板の急速な凝集が観察され, 30 分程度でプラトーに達した。SEM 像では密に凝集した PFC が観察され, 各種上皮誘導因子の有意な増加が確認された。

2. 処理群では接着細胞数の経時的な増加が認められ, SEM 像にてチタン表面上に上皮細胞の接着が確認された。Confocal Microscope にて, Laminin-5 陽性の伸展した基底膜および ZO-1 陽性のタイトジャンクションで連結している細胞シートが認められた。さらに, 培養上清中の LL37 および tPA の有意な増加が確認された。未処理群では, チタン表面上に付着している上皮細胞は小さくラウンドアップしていたのに対し, 処理群では Laminin-5 陽性面積が核面積以上に有意に増加していた。

考察及びまとめ：本研究は, 活性化された血小板を応用することにより, タイトジャンクションで連結した上皮細胞の基底膜を介したチタン表面への接着が可能であることを明らかにした。処理群の培養上清中には PFC 分解能を有する高濃度の tPA が検出されており, これは上皮細胞が PFC 層を浸潤透過してチタン表面に接着したことを示唆している。また処理群で検出された LL37 の分泌は, 抗菌活性向上への寄与が期待される。上記の結果から, 血小板活性化能をもつペプチドのコーティングを施したチタンカスタムアバットメントは, 基底膜を介した細接着による抗菌性の獲得が可能と考えられ, 今後の臨床応用とインプラントの長期安定への貢献が期待できる。