

マウスにタモキシフェンを腹腔内投与したところ顎下部に腫瘍の形成を認めた。そこで腫瘍を含む唾液腺組織を摘出し標本作成後病理組織学的手法により腫瘍の表現型を解析した。

結果：作製された腫瘍は、顎下腺内部に位置し既存の周囲の正常唾液腺組織との間に線維性被膜の形成が認められ病変内部の腫瘍細胞は結合性を有する胞巣状のパターン（オルガノイドパターン）を呈していた。腫瘍細胞は類円形の好酸性の細胞質を有しており偏在核を伴っていた。また、免疫蛍光染色の結果において腫瘍細胞は aquaporin 5 陽性、cytokeratin 18 と cytokeratin 14 は陰性であった。

考察：今回作製したノックインマウスにおいて唾液腺腫瘍の形成がみられたことから、唾液腺腫瘍の組織発生に正常唾液腺組織を構成している腺房細胞および導管上皮細胞での PLAG1 の過剰発現が関与している可能性が示唆された。また形成された腫瘍の病理組織学的所見から、作製された腫瘍は少なくとも上皮性腫瘍であって良性腫瘍を窺わせる腫瘍であり、その性状は特異的ではあるものの不完全な腺房細胞への分化を示し筋上皮細胞への分化は伴わないタイプの腫瘍であることが示された。

結論：正常唾液腺組織の腺房細胞および導管上皮細胞に PLAG1 を過剰発現させることにより、腺房様細胞からなる唾液腺腫瘍モデルマウスを確立した。また、作出された唾液腺腫瘍は筋上皮細胞への分化は伴わず、やや不完全な腺房細胞への分化を示した。

2. TGF- β は LPS がヒト間葉系幹細胞で誘導する NF- κ B 依存的な骨芽細胞分化抑制効果を解除する

TGF- β abrogated the LPS-induced activation of NF- κ B-mediated signal that relayed suppressive effect on the osteogenic activity in human mesenchymal stem cells

○青木 貴晃*, 横田 聖司, 帖佐 直幸,
客本 斉子, 野田 守*, 石崎 明

岩手医科大学学生化学講座細胞情報科学分野, 岩手医科大学歯学部歯科保存学講座
う蝕治療学分野*

目的：アスコルビン酸、デキサメタゾン (Dex) および β -グリセロリン酸 (β -Gp) の合剤の刺激は、ERK を介したシグナルの活性化を通じて間葉系幹細胞 (MSC) の骨芽細胞分化を誘導することが知られている。また、合剤による骨芽細胞分化誘導効果は、トランスフォーミング増殖因子ベータ (TGF- β) などの増殖因子の添加により増強されることが報告されている。一方、歯周炎の病原菌として知られるグラム陰性菌由来の lipopolysaccharide (LPS) が、MSC の骨芽細胞分化にどのような影響を与えるかについては明らかとされていない。そこで今回我々は、1) LPS が合剤による骨芽細胞分化促進効果にどのような影響を与えるかについて、骨芽細胞分化に重要なシグナル伝達分子として知られる extra-cellular signal-regulated kinase (ERK) に着目して調査をするとともに、2) LPS が TGF- β による骨芽細胞分化増強効果にどのように影響するかについても同様に調査した。

材料・方法：ヒト骨髄由来 MSC 細胞株 UE7T-13 を用い、この細胞の骨芽細胞分化誘導には、骨芽細胞誘導培地 OGM [基礎培地としての α -MEM にアスコルビン酸ナトリウム (50 μ g/mL), Dex (100 nM), β -Gp (10 mM), およびウシ胎児血清 (FBS) (10%) を加えたもの] を用いた。また、TGF- β 1 (1~5 ng/mL) を添加した培地を用い、MSC のさらなる骨芽細胞分化を誘導した。加えて、LPS (0.1~1.0 μ g/mL) を投与することにより、MSC の骨芽細胞分化がどのように変化するかを、骨芽細胞分化マーカーとしてアルカリホスファターゼ (ALP) の発現量を指標として調査した。さらに、TGF- β 1 による MSC の骨芽細胞分化誘導シグナルや、LPS による骨芽細胞分化誘導阻害シグナルがどのように伝達されるかを明らかとするために、各種シグナル伝達分子阻害剤や抗リン酸化シグナル伝達分子抗体を用いた実験系により明らかとした。

結果：1) 合剤 (アスコルビン酸, Dex および β -Gp) による刺激により ALP の発現量が mRNA レベルで上昇した。

2) TGF- β 1 は、合剤により上昇した ALP mRNA 発現量を濃度依存的にさらに増加させることを確認した。また、TGF- β 1 による ALP mRNA 発現増強効果は、I 型 TGF- β 受

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発現量が増加した。

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なった。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になりたい。

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