

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)	氏名	高橋 慶太
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論 文 題 目 歯周組織構成細胞から産生される液性因子によるヒストン脱アセチル化酵素の発現および活性への影響			
論文審査担当者 主 査 教 授 谷本 幸太郎 印 審査委員 教 授 兼松 隆 審査委員 准教授 武知 正晃			
〔論文審査の要旨〕 高度に破壊された歯周組織に対する治療法として、歯周組織再生療法に対する期待が高まっている。歯周組織再生の 3 つの要素として細胞、足場、成長因子があり、それらに環境因子と時間が加わることで再生が起こるとされている。近年、歯周組織再生療法の一つとして間葉系幹細胞(MSC)を用いた細胞移植の応用が検討されており。移植された MSC は局所において様々な刺激を受けて増殖・分化し、歯周組織再生が達成されることから、歯周組織構成細胞から分泌される液性因子が MSC の増殖・分化を中心とした細胞機能に影響を及ぼすと考えられる。これまでの <i>in vivo</i> の研究において、ビーグル犬臼歯部に作製したⅢ級根分岐部欠損モデルにアテロコラーゲンゲルを担体として MSC を移植したところ、歯槽骨、セメント質、歯周靭帯が再生されたことが示された。しかし、どのようなメカニズムで移植された MSC が移植局所の環境において歯周組織再生を促進するのか不明な点が多く、そのメカニズムを明らかにすることは重要である。MSC の骨分化は、骨関連転写因子の DNA 結合領域が活性化することで骨分化の制御を受けることが知られている。ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)は、MSC 内の転写活性を制御することによって細胞機能に影響を及ぼすことが知られており、液性因子が HDAC 発現および活性化を介して MSC を制御している可能性が考えられる。そこで本研究では、HDAC の関与に着目し、歯周組織構成細胞の歯周靭帯細胞 (HPL cells) や歯肉線維芽細胞 (HGF) が産生する液性因子が MSC の細胞機能に及ぼす影響を解明することを目的とした。			

MSCは骨分化誘導条件下においてHPL cellsとの共培養ではオステオポンチン(OPN)、RUNX2、オステオカルシン(OC)のmRNA発現の抑制、HGFとの共培養ではOPNのmRNA発現の抑制が見られた。両者においてアリザリンレッド染色の抑制が認められたことから共培養によってMSCの骨分化能が抑制されることが示唆された。同条件において、HPL cellsとの共培養ではHDAC1およびHDAC2のmRNA発現の有意な減少が見られ、タンパク質レベルでもリン酸化HDAC1およびリン酸化HDAC2発現の減少が見られた。また、未分化条件下においてはHDAC1 mRNA発現上昇したが、HDAC2では変化は認めず、タンパク質レベルにおいても同様の傾向であった。一方、HGFとの共培養では骨分化誘導時にHDAC1のmRNA発現が上昇し、HDAC2ではmRNAの変化はなかったが、タンパク質レベルでは両者とも有意に減少した。さらにHPL cellsまたはHGFとの骨分化誘導条件下共培養においてはHDAC1およびHDAC2の活性低下に伴いアセチル化ヒストン3の発現がタンパク質レベルで上昇した。一方、未分化条件下ではリン酸化HDAC1がタンパク質レベルで上昇したにもかかわらずアセチル化ヒストン3の発現がタンパク質レベルで上昇した。

次に、MSC骨分化誘導時のトリコスタチンA (TSA)の影響を検討した。HDAC阻害剤であるTSAは広いHDAC阻害活性を持ち、抗真菌抗生物質として働く有機化合物の一つである。TSAは幅広いエピジェネティック活性スペクトルを有し、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤でHDAC自身の活性中心に作用することにより活性を抑制するものである。骨分化誘導培地においてTSA添加群では、非添加群と比較してアリザリンレッド染色、フォンコッサ染色およびアルカリフォスファターゼ染色において染色度が限弱していた。RUNX2, OPN, OCなどの骨分化関連遺伝子mRNA発現の減少もしていたことからTSAによってHDAC1およびHDAC2の活性が抑制されたため、骨分化および石灰化が抑制されることが示唆された。これらのことからHPL cellsやHGFからの液性因子がMSC内部のHDAC1またはHDAC2に作用し、これらの活性制御およびヒストン3のアセチル化を介してMSCの骨分化の制御に関与していることが示唆された。

以上のことからHPL cellsやHGFの液性因子によって、HDACはヒストンのアセチル化を介しMSCの骨分化に影響を与えたことが分かった。よって審査委員会委員全員は、論文が著者に博士(歯学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。