

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)	氏名	柏井 桂
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>歯肉上皮細胞と歯周靭帯細胞の増殖に及ぼす脳由来神経栄養因子の相反作用</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教授 谷本 幸太郎 印</p> <p>審査委員 教授 高田 隆</p> <p>審査委員 教授 加藤 功一</p>			
<p>〔論文審査の要旨〕</p> <p>歯周炎は、細菌感染に対する宿主の免疫応答の結果生じる組織破壊性疾患である。すなわち、咀嚼機能・審美性の回復のための理想的な歯周治療は、その失われた組織を取り戻す歯周組織再生療法であるといえる。これまでに、脳由来神経栄養因子 (BDNF) が歯周組織再生を促進することを、ビーグル犬歯周組織欠損モデルを用いて明らかになっている。また、in vitro の研究において、BDNF が歯周靭帯細胞やセメント芽細胞の骨関連タンパク質の発現を促進すること、血管内皮細胞の vascular endothelial growth factor (VEGF) の遺伝子発現の増強、細胞遊走促進、それに伴う血管新生を誘導することが明らかになっている。歯周組織再生はシャープ繊維の埋入を伴った新生セメント質と歯槽骨、及び歯周靭帯を再構築することであるが、歯肉上皮の侵入はこれらの組織の再構築の場を占有し、組織再生を阻害する。重要なことに、上述のビーグル犬根分岐部病変Ⅲ級モデルを用いた動物実験において、BDNF による歯周組織再生過程で根分岐部内への歯肉上皮の侵入は認められなかった。BDNF を安全で確実性の高い歯周組織再生療法として適応症例を明確にするために、この BDNF による歯肉上皮の侵入抑制のメカニズムを解明する必要がある。そこで、本研究では、歯肉上皮細胞の細胞増殖・アポトーシスに及ぼす BDNF の影響を、歯周靭帯細胞と比較しながら検討することとした。実験には、不死化ヒト歯肉上皮細胞 OBA9 (大阪大学、村上伸也教授から供与) と不死化ヒト歯周靭帯細胞 HPL cells (広島大学、高田教授から供与) を供試した。</p>			

BDNF 刺激の細胞増殖への影響を BrdU assay で測定したところ、HPL cells の増殖を促進したのに対し、OBA9 の増殖には影響を与えなかった。一方、アポトーシス細胞を TUNEL 染色によって検出すると、BDNF 刺激は HPL cells のアポトーシスを誘導しなかったが、OBA9 のアポトーシスを誘導した。

次に、その分子制御機序を調べるために、BDNF の受容体である TrkB と p75 の発現を Western Blotting 法にて確認した。OBA9 は TrkB、p75 をともに発現していたのに対し、HPL cells は TrkB を発現していたものの、p75 の発現が OBA9 と比して著しく低かった。さらに、MAPK シグナル伝達経路について同様に Western Blotting 法によって検討した。BDNF 刺激は HPL cells の ERK のリン酸化を促進したが、OBA9 に対しては JNK のリン酸化を促進した。

HPL cells の BDNF 刺激による細胞増殖は、TrkB-ERK シグナルカスケードを介していることが TrkB siRNA の導入および ERK 阻害剤を用いた阻害実験によって確認できた。また、OBA9 において観察された BDNF 誘導性アポトーシスは、p75-JNK シグナルを介することが、p75 siRNA および JNK 阻害剤を用いた検討によって示された。

p75 発現の低かった HPL cells に対して、p75 発現ベクター導入によって強制発現させたところ、BDNF 刺激が JNK のリン酸化とアポトーシスを誘導することが示された。さらに、BDNF 刺激による HPL cells の細胞増殖の上昇が p75 強制発現によって抑制された。一方、p75 siRNA を導入した OBA9 において、BDNF 刺激が細胞増殖を促進することを確認した。

以上の結果から本論文は、歯周靭帯細胞では BDNF は TrkB-ERK シグナルを介して細胞増殖を促進するのに対し、歯肉上皮細胞においては BDNF 刺激によって活性化された p75-JNK シグナル伝達経路が優位に働き、アポトーシス促進および細胞増殖抑制を調節していることが示唆された。サイトカインを用いた歯周組織再生療法の中でも、特に BDNF は他のサイトカインと異なり、歯周靭帯の増殖を TrkB 受容体を介して促進する一方で、歯肉上皮の深部増殖を p75 受容体を介して抑制することで、確実に歯周組織再生を促進するものと考えられる。

よって審査委員会委員全員は、

本論文が著者に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。