

氏 名（本籍）： ^{さき}向 ^{さか}阪 ^{ゆき}幸 ^{ひこ}彦

学 位 の 種 類： 博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号： 歯 博 第 7 0 8 号

学位授与年月日： 平成27年3月25日

学位授与の要件： 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目： 歯根形成における歯小囊 Wnt5a の発現とその役割について

論文審査委員：（主査）教授 笹 野 泰 之
教授 山 本 照 子 教授 島 内 英 俊

論文内容要旨

Wnt は発生過程および発生後の生体機能の維持・調節に関わる分泌型糖タンパク群で、 β -catenin 依存性の古典的経路あるいは同非依存性の非古典的経路を介して、細胞の増殖、分化やアポトーシスを制御している。歯小囊細胞はセメント芽細胞、骨芽細胞および歯根膜線維芽細胞の前駆細胞と考えられているが、これまでの研究から、歯根形成過程において歯小囊細胞に古典的 Wnt シグナルが作用すると、セメント芽細胞／骨芽細胞系への分化を誘導されることが報告されている。しかしながら、歯根形成過程において非古典的 Wnt シグナルがいかなる調節機能を果たしているのかはあまり知られておらず、本研究ではそれを明らかにすることを目的とした。

まず免疫組織染色法を用いて、マウス歯根形成期の歯根表面に配列する細胞、すなわち前セメント芽細胞あるいはセメント芽細胞に、非古典的経路のリガンドである Wnt5a が発現していることを明らかにした。次にマウス歯小囊細胞株に Wnt5a が発現していることを RT-PCR 法で確認した後、同細胞株をリコンビナント Wnt5a (rWnt5a) で刺激したところ、遊走能が抑制される一方で増殖能には影響がみられなかった。古典的 Wnt リガンドである Wnt3a は、歯小囊細胞に作用してアルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase; ALP) の発現を誘導するが、歯小囊細胞株の Wnt5a 遺伝子の発現を siRNA 法を用いて抑制したところ、リコンビナント Wnt3a (rWnt3a) で誘導される ALP の発現が遺伝子および酵素活性レベルで増強されることが明らかとなった。外因性に rWnt5a を添加したところ Wnt3a 誘導性 ALP 発現は逆に抑制された。一方、rWnt3a 刺激により Wnt5a 遺伝子の発現が有意に増加した。

本研究の結果から、歯小囊細胞においては古典的 Wnt シグナルによる初期分化誘導に対して、Wnt5a は負の調節因子として機能することがまず示された。そればかりでなく、古典的および非古典的 Wnt シグナルの相互作用により歯小囊細胞の分化を制御する機構が存在することが示唆された。

審査結果要旨

Wnt は発生過程および発生後の生体機能の維持・調節に関わる分泌型糖タンパク群で、 β -catenin 依存性の古典的経路あるいは β -catenin 非依存性の非古典的経路を介して、細胞の増殖、分化やアポトーシスを制御している。歯小嚢細胞はセメント芽細胞、骨芽細胞および歯根膜線維芽細胞の前駆細胞と考えられているが、これまでの研究から、歯根形成過程において歯小嚢細胞に古典的 Wnt シグナルが作用すると、セメント芽細胞／骨芽細胞系への分化を誘導されることが報告されている。しかし、歯根形成過程において非古典的 Wnt シグナルがいかなる調節機能を果たしているのかの詳細は不明であることから、本研究は β -catenin 非依存性 Wnt シグナルの歯根形成における役割を明らかにすることを目的としている。

まず免疫組織染色法を用いて、マウス歯根形成期の歯根表面に配列する細胞、すなわち前セメント芽細胞あるいはセメント芽細胞に、非古典的経路のリガンドである Wnt5a が発現していることを明らかにした。次にマウス歯小嚢細胞株に Wnt5a が発現していることを RT-PCR 法で確認した後、同細胞株をリコンビナント Wnt5a (rWnt5a) で刺激したところ、遊走能が抑制される一方で増殖能には影響がみられないことを示した。古典的 Wnt リガンドである Wnt3a は、歯小嚢細胞に作用してアルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase : ALP) の発現を誘導するが、歯小嚢細胞株の Wnt5a 遺伝子の発現を siRNA 法で抑制したところ、Wnt3a より誘導される ALP の発現が遺伝子および酵素活性レベルで増強されることが明らかとなった。また、外因性に rWnt5a を添加したところ Wnt3a 誘導性 ALP 発現は逆に抑制され、一方でリコンビナント Wnt3a 刺激により Wnt5a 遺伝子の発現が有意に増加することが示された。

本研究の結果から、歯小嚢細胞においては古典的 Wnt シグナルによる初期分化誘導に対して、Wnt5a は負の調節因子として機能すること、古典的および非古典的 Wnt シグナルが相互作用により歯小嚢細胞の分化を制御する機構が存在することが示唆された。本研究の成果は歯周治療学をはじめとする臨床歯学の発展に貢献することが期待され、博士(歯学)の学位論文として相応しいと判断する。