

氏名(本籍) : 小野真理子

学位の種類 : 博士(歯学) 学位記番号 : 歯博第662号

学位授与年月日 : 平成26年3月26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 : NGF-p75による歯原性上皮細胞の増殖制御機構の解明

論文審査委員 : (主査) 教授 齋藤正寛
教授 山本照子 教授 福本敏

論文内容要旨

神経栄養因子は、神経細胞の発生や生存、機能に必須の因子とされてきたが、近年では多くの非神経細胞・組織でその重要な機能が明らかにされてきている。これまで我々は、神経栄養因子のひとつであるNT-4が、エナメル芽細胞の分化に重要な因子であることを明らかにしてきた。今回、神経栄養因子のうち神経成長因子(NGF)に着目し、NGFの歯原性上皮細胞における役割についての検討を行った。胎生16.5日および出生後1日齢のマウス歯胚切片を作製し、NGFの高親和性受容体TrkAと低親和性受容体p75の発現を免疫組織学的に解析した。その結果、TrkAはいずれの歯胚発育段階においても発現が認められなかった。一方、p75は内エナメル上皮および中間層細胞、星状網細胞に発現しており、分化したエナメル芽細胞にはp75の発現は観察されなかった。次に、ラット歯原性上皮由来細胞株SF2を用いて、歯原性上皮細胞におけるNGFの役割について検討を行ったところ、SF2において、p75陽性細胞は歯原性上皮細胞の分化マーカーであるアメロブラスチン陽性細胞の周囲の細胞に観察された。また、SF2細胞をNGFで刺激したところ、経時的に細胞数と、BrdU陽性細胞数の増加も観察された。NGFの細胞内シグナル伝達経路をウエスタンブロットティング法にて解析した。その結果、NGFで刺激後、ERK1/2およびSrcのリン酸化が認められた。そこで、ERK1/2の上流分子であるMEKの阻害剤U0126でSF2細胞を処理したところ、濃度依存的にNGF誘導性の細胞増殖活性が抑制された。また、p75過剰発現細胞では、NGFによる細胞増殖およびERK1/2のリン酸化が促進したが、細胞内ドメインを欠失させたp75変異体過剰発現細胞では、NGF誘導性の細胞増殖およびERK1/2のリン酸化が抑制された。以上の結果から、NGFは、p75-ERK1/2シグナルを介して、歯原性上皮細胞の増殖を促進する因子であることが示唆された。

審査結果要旨

本論文は、歯胚発生過程におけるNGFの分子機能について明らかにした論文である。

上皮付属器官である歯胚は、歯原性上皮と歯原性間葉から構成されており、これら細胞の相互作用によりその発生が制御されている。この発生過程において、エナメルノットから分泌される様々なシグナル分子により歯原性上皮、歯原性間葉は増殖し、そして各々がエナメル芽細胞、象牙芽細胞へ分化することで、咬頭を含む複雑な歯胚の形態が形成される。このように、歯原性上皮、歯原性間葉の増殖・分化には様々なシグナル分子の関与が示唆されているが、その詳細な分子メカニズムは充分には解明されていない。これまで、神経栄養因子であるNerve Growth factor (NGF)とNT-4が歯原性上皮細胞の発生に関わる事が報告されてきた。中でもNT-4は、TrkB受容体を介してエナメル芽細胞分化制御に関わる事が報告されている。神経栄養因子の歯胚発生への関与は示されているものの、NGFの歯原性上皮細胞における役割は明らかにされていない。

本論文では、神経栄養因子を介したエナメル芽細胞分化機構を明らかにするため、歯原性細胞におけるNGFの機能を解析した。本研究結果として、歯胚発生過程においてNGF受容体であるp75が増殖期の内エナメル上皮、中間層および星状網に局在し、一方増殖停止期のエナメルノットでは発現しないことを示した。また、NGFは歯原性上皮細胞株であるSF-2に対して、p75-MAP kinase経路を介して細胞増殖を誘導することを、p75の機能欠損型変異体の過剰発現あるいはアンタゴニストを用いた抑制実験で証明した。この結果より、歯胚発生過程においてNGFはp75を介して歯原性上皮細胞の増殖機構に関与し、またエナメル芽細胞分化を誘導するNT-4とは異なる生理機能を有している事を明らかにした。さらにNGFはSrc経路を活性化し、またNT-4刺激時と異なるMAP kinaseのリン酸化パターンを示すことから、独自のシグナル経路を活性化していることも示唆した。これまで、P75欠損マウスではエナメル質の脆弱化が報告されており、NGF-p75経路の歯胚発生機構における重要性が示唆されてきた。本研究により、NGF-p75経路は歯原性上皮細胞の増殖制御に関与することを示し、歯胚発生における神経栄養因子の新たな役割を初めて明らかにした。

よって本論文は、歯胚発生機構のみならず小児歯科領域におけるエナメル質関連疾患の解明にも有用な知見を提供する事が期待され、博士(歯学)に相応しい内容と判断する。