

氏名(本籍) : はま ぢ のぞむ
濱 地 希

学位の種類 : 博士 (歯 学) 学位記番号 : 歯博第611号

学位授与年月日 : 平成24年3月27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 : ヒト歯髄細胞に対して高濃度細胞外カルシウムが骨形成蛋白質(BMP-2)の発現に与える影響

論文審査委員 : (主査) 教授 島内 英俊
教授 笹野 泰之 教授 福本 敏

論 文 内 容 要 旨

歯髄細胞は骨芽細胞と比較して多くの点で共通するフェノタイプを有する細胞であり、象牙芽細胞に分化し象牙質を形成する。骨芽細胞において細胞外カルシウムの上昇は細胞増殖と分化を刺激することによって骨形成に関与することが知られている。しかし、象牙質形成においては細胞外カルシウム上昇が、いかなるシグナルを伝達するかに関しては未だ分かっていない。本研究においてヒト歯髄細胞を高濃度(10 mM) CaCl_2 で刺激をしたところ、骨形成蛋白質(BMP)-2 遺伝子の発現が増加することを見出した。また、 CaCl_2 刺激は、転写阻害剤 actinomycin D 添加による BMP-2 mRNA 発現の減衰を有意に抑制したことから、BMP-2 遺伝子の発現の増加は転写レベルのみならず転写後レベルでも調節されることが示唆された。また、ヒト口腔組織由来間葉系細胞である歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞においても同じ刺激で BMP-2 遺伝子発現の増加が観察された。しかしながら、歯肉線維芽細胞の BMP-2 遺伝子発現は、歯髄細胞や歯根膜細胞のそれと比較すると有意に低かった。BMP-2 遺伝子発現の増加は、Extracellular-signal-regulated kinase (ERK) 阻害剤 PD98059 前処理により顕著に阻害され、また L 型 Ca^{2+} チャンネル阻害剤 nifedipine 前処理によって部分的に阻害された。 CaCl_2 刺激によって ERK1/2 のリン酸化が誘導されたが、nifedipine 前処理はそれには影響を及ぼさなかった。このことから、 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} 流入によるシグナルは、ERK1/2 シグナルとは独立して機能していることが示唆された。さらにヒト歯髄細胞は Ca^{2+} 感知受容体 (Ca^{2+} sensing receptor; CaSR) を発現していなかったこと、また Sr^{2+} やスベルミンなどのような陽イオンに対しても同様に BMP-2 遺伝子発現が増加したことから、ヒト歯髄細胞は CaSR 非依存的なセンサーを介して、いくつかの陽イオン、特に Ca^{2+} に対して BMP-2 mRNA 発現を増加させることが示唆された。

審査結果要旨

象牙質の形成と添加を担う象牙芽細胞は、歯髄細胞から分化した細胞であり、多くの点で骨芽細胞と共通の表現型を持つ細胞である。細胞外カルシウムの上昇は、骨芽細胞においてその増殖と分化を誘導することにより、骨形成を誘導することが知られている。しかしながら象牙質形成において細胞外カルシウムの上昇がいかなるシグナルを伝達するのかについては未だ明らかではない。本研究は、まさにそのメカニズムを明らかにすることを目的として企図されたものであり、まず象牙芽細胞前駆細胞を含むヒト歯髄細胞を、高濃度 CaCl_2 (10 mM) 刺激すると、骨形成タンパク質 (BMP) -2 遺伝子発現が増加することを示した。転写阻害剤 actinomycin D 共存下で CaCl_2 刺激を行うと、増加した BMP-2 mRNA の減衰が有意に抑制されたことから、BMP-2 遺伝子の発現は転写レベルのみならず転写後においても調節されることが明らかとなった。同じくヒト口腔組織由来の間葉系細胞である歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞に対しても CaCl_2 刺激は BMP-2 mRNA の上昇を誘導したが、歯肉線維芽細胞においては歯髄細胞や歯根膜細胞に比べてその程度は有意に低く、細胞間での相違がみられた。さらに歯髄細胞における細胞外カルシウムとその後に生じるシグナル伝達機構を調べるため、Extracellular signal regulated-kinase (ERK) 阻害剤 PD98059 前処理を行ったところ、 CaCl_2 刺激による BMP-2 mRNA 発現上昇は顕著に阻害された。それに対して、L 型 Ca^{2+} チャンネル阻害剤 nifedipine 前処理では部分的な阻害しか受けないことを示した。また同前処理は CaCl_2 刺激による ERK 1/2 リン酸化に対して影響を及ぼさないことから、 Ca^{2+} チャンネルからの Ca イオン流入によるシグナルは ERK 1/2 を介したシグナルとは独立して機能していることが明らかとなった。ヒト歯髄細胞における Ca^{2+} 認識機構を調べたところ、同細胞は Ca^{2+} 感知受容体 (Ca^{2+} sensing receptor; CaSR) を発現していないものの、 Sr^{2+} やスベルミンなどの陽イオン刺激でも同様に BMP-2 発現が常用することから、ヒト歯髄細胞は CaSR 非依存的なセンサーを用いて、 Ca^{2+} を含むいくつかの陽イオンに反応して、BMP-2 発現を上昇させることを示唆した。

以上述べてきたとおり、本論文が示した知見はこれまで臨床的に直接覆髄に応用されてきた水酸化カルシウムによる硬組織形成誘導機構の一端を明らかにしたばかりでなく、今後研究成果を基にした新たな歯髄・象牙質再生治療の開発にも繋がるものと考えられる。よって本審査委員会は博士（歯学）の学位を授与するに相応しい者と判断する。