

## マウス歯原性上皮細胞株におけるThymosin beta 4によるRunx2発現調節メカニズムの検索

染矢, 祐孝

<https://doi.org/10.15017/1500638>

---

出版情報：九州大学, 2014, 博士（歯学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：全文ファイル公表済

氏 名	染矢 祐孝			
論 文 名	マウス歯原性上皮細胞株における Thymosin beta 4 による Runx2 発現調節メカニズムの検索			
論文調査委員	主 査	九州大学	教授	中西 博
	副 査	九州大学	教授	赤峰 昭文
	副 査	九州大学	教授	久木田 敏夫

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

歯の発生における thymosin beta 4, X-linked (Tb4) の機能についてのこれまでの解析から、Tb4 が歯原性上皮細胞において runt-related transcription factor 2 (Runx2) の発現を制御することによって歯の発育や基質の形成に関与している可能性が考えられる。しかし、Tb4 が Runx2 を制御するメカニズムの詳細は不明である。そこで本研究では、歯原性上皮細胞において Tb4 が Runx2 を制御する分子メカニズムの一端を明らかにすることを目的とした。

本研究は 4 部から構成され、第 1 部では歯原性上皮細胞株 (mDE6 細胞: mouse dental epithelial cells) の実験材料としての有用性を確認するため、石灰化誘導実験を行った。3 週間の石灰化誘導培養により、mDE6 細胞は石灰化様構造物を形成し、経時的に増加した。石灰化誘導群において歯原性関連 mRNA 発現やアルカリフォスファターゼ活性の有意な発現増加を認めた。さらに、石灰化様構造物形成部位に一致した歯原性関連タンパクの発現を認めた。これより、mDE6 細胞は歯原性関連タンパクを含む石灰化様構造物を形成する細胞であることが確認された。

第 2 部では、mDE6 細胞における Runx2 の発現調節に関与するシグナル経路を検索するため Smad、MAPK、PI3K-Akt、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路のタンパク発現を検索した。石灰化誘導培養により、Runx2 の発現増加を認め、p-Smad1/5 や p-Akt の発現も増加していた。また、mDE6 細胞を石灰化誘導培養しながら Smad1/5/8 および Akt リン酸化阻害剤を添加すると、Runx2 のタンパク発現減少および石灰化様構造物の形成阻害を認めた。これより、mDE6 細胞における Runx2 の発現調節には Smad や PI3K-Akt 経路が関与していることが確認された。

第 3 部では、Tb4 による Runx2 の発現制御に Smad や PI3K-Akt 経路が関わっているかを検索するため、siRNA 法による Tb4 発現抑制下での Runx2 発現およびその上流のシグナル因子の発現検索を行った。Tb4 発現抑制によって、Runx2 のタンパク発現は減少傾向を示した。Runx2 上流シグナル因子については、siRNA 群において p-Smad1/5 や p-Akt の発現減少傾向を認めた。

第 4 部では将来の臨床応用を目指し、マウス初代歯肉上皮細胞においても Tb4 遺伝子導入により、歯原性上皮様細胞に形質転換するかを確認するため、生後 2-3 週齢のマウスの上下顎歯肉より上皮細胞を単離・培養し、Tb4 過剰発現細胞を作製した。Tb4 過剰発現細胞では、未導入細胞と比べて歯原性関連 mRNA の発現増加に加えて、免疫細胞化学染色において歯原性関連タンパクの発現を認めた。

以上の結果より、mDE6 細胞における Tb4 による Runx2 発現調節には、Smad や PI3K-Akt 経路が関与している可能性が示唆された。さらに、マウス初代歯肉上皮細胞においても Tb4 遺伝子導入により歯原性上皮様細胞に形質転換する可能性が示された。従って、博士 (歯学) の学位授与に値する。