九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

歯根膜組織の恒常性維持におけるWnt5aの機能に関する研究

長谷川，大学

https://hdl.handle.net/2324/1500648

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：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

（様式６－２）

氏　　名	長谷川　大学
論　文　名	歯根膜組織の恒常性維持における Wnt5a の機能に関する研究
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　髙橋　一郎 副　査　　九州大学　　教授　　久木田　敏夫 副　査　　九州大学　　教授　　清島　保

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

Wnt ファミリー分子とそのシグナル経路は、細胞増殖・分化など様々な生物学的活性を有している。Wnt ファミリーのうち Wnt5a は、様々な組織の発達や細胞機能において重要な役割を果たしていることが知られているが、ヒト歯根膜細胞に及ぼす影響については殆ど報告がない。そこで本研究では、歯根膜組織における Wnt5a の局在および機能について解析した。

Wnt5a について免疫組織化学的染色を行った結果、ラット歯根膜組織全体に陽性反応が認められ、半定量的 RT-PCR 法により、ヒト歯根膜細胞において Wnt5a とそのレセプター（Ror2、Fzd2 および Fzd5）の遺伝子発現が認められた。また 10%の伸展刺激を 24 時間負荷したヒト歯根膜細胞において、Wnt5a、Ror2、Fzd2 および Fzd5 の遺伝子発現量が有意に増加した。さらに、咬合負荷喪失モデルラットにおいて、咬合機能を喪失させた歯根膜組織における Wnt5a の発現は減弱していた。

Wnt5a 存在下で培養したヒト歯根膜細胞において、歯根膜線維関連遺伝子（Periostin、Type-1 collagen および Fibrillin-1）の発現量ならびにコラーゲン産生量が有意に増加した。しかしながら、Periostin siRNA または TGF β1 中和抗体を用いた阻害実験により、その増加は有意に抑制された。一方で、TGF β1 中和抗体添加により、Wnt5a によって上昇した Periostin 発現が低下したのに対し、Periostin siRNA 添加では、Wnt5a によって上昇した TGF β1 発現に影響が認められなかった。これらのことから、Wnt5a はヒト歯根膜細胞において、TGF β1 の発現上昇を介して Periostin の発現を上昇させ、歯根膜線維関連遺伝子発現やコラーゲン産生を促進していると考えられた。さらに、多分化能を持つ未分化なヒト不死化歯根膜細胞クローン 2-23 を Wnt5a 含有石灰化誘導培地で培養すると、Wnt5a 非含有群と比較してアリザリンレッド S 陽性反応ならびに骨関連遺伝子（OPN、BSP、BMP2 および Osterix）の発現量が有意に減少し、一方で ERK、JNK および AKT のリン酸化が亢進した。また、Wnt5a 含有石灰化誘導培地で培養した 2-23 細胞に対し、Ror2 の siRNA を導入した結果、Wnt5a 刺激によって減少した骨関連遺伝子の発現量が回復し、ERK および JNK のリン酸化が低下した。加えて、阻害剤による JNK のリン酸化抑制は、Wnt5a 刺激によって減少したアリザリンレッド S 陽性反応ならびに骨関連遺伝子の発現を回復させたが、ERK のリン酸化抑制では影響は認められなかった。これらのことから、Wnt5a は Ror2-JNK シグナルを介してヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を抑制することが明らかになった。

以上より、Wnt5a はヒト歯根膜細胞のコラーゲン線維形成を促進する一方で、骨芽細胞様分化および石灰化を抑制することにより、歯根膜が石灰化することなく線維性結合組織を維持するメカニズムに関与している可能性が示唆された。また、咬合機能の喪失により Wnt5a の発現が低下し、一方で伸展刺激を加えることで発現が上昇したことから、Wnt5a が、咬合力に常時曝露される歯根膜の恒常性維持に関与している可能性が考えられた。審査の結果、本研究が九州大学大学院歯学府において博士（歯学）の授与に値するものと判断した。