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

矯正学的な歯の移動により歯根膜に誘導されるオートファジーに関する研究

笠，法子

https://hdl.handle.net/2324/1806934

出版情報：九州大学，2016，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３）

氏　　名　：　笠　　法子

論 文 名　：矯正学的な歯の移動により歯根膜に誘導されるオートファジーに関する研究

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

矯正学的な歯の移動において、歯根膜線維芽細胞はメカニカルストレスのみならず血流変化による低酸素や栄養不足に曝されることから、細胞における生存・恒常性維持のメカニズムがダイナミックに変化していると考えられる。一方、真核細胞の細胞内タンパク分解機構の一つであるオートファジーは、一般的にメカニカルストレスや低酸素といった環境ストレスにより誘導され細胞の生存に関わることが知られている。歯根膜線維芽細胞において、歯の移動時には電子顕微鏡学的にオートファジーが誘導されることは知られているが、現在までにその誘導因子や歯根膜の細胞死との関連について検討した報告はない。本研究では、歯周組織における種々のストレスに対するオートファジー誘導因子を解明し、さらにオートファジーとアポトーシス性細胞死との関連を明らかにすることで、歯根膜線維芽細胞の適応システムの一端を解明することを目的とした。

まず 全身に GFP-LC3 融合タンパクを発現するトランスジェニックマウス（8-10 週齢）の左側上顎第一臼歯に超弾性コイルスプリングを装着し、3-24 時間 10 gf（9.8×10^{-2} N）の矯正力を負荷したのち、歯根膜におけるオートファジーマーカー（LC3）の局在、歯根膜中の低酸素状態の有無、およびアポトーシス性細胞死の多寡を組織学的に解析した。その結果、歯の移動開始 6 時間後までに、圧迫側歯根膜において LC3 の局在が顕著に誘導されたが、伸展側歯根膜においては LC3 の局在は検出できなかった。また、圧迫側歯根膜中のオートファジーが誘導されていた領域とほぼ一致する領域が、歯の移動開始から3-6時間後に低酸素状態になっていることが、 Hypoxyprobe™ の免疫染色にて確認された。加えて、圧迫側歯根膜における LC3 はアポトーシスに先行して誘導され、アポトーシスが亢進する歯の移動開始 24 時間後には LC3 の誘導は減少していた。つぎに、歯根膜組織におけるオートファジー誘導因子を明らかにするために、ヒト歯根膜線維芽細胞株を、様々な大きさの伸展力（0, 16, 33 % 伸展）、様々な大きさの圧縮力（0, 1.0, 3.0 gf/cm^2）、および低酸素分圧（～1 % pO_2）の下で一定時間培養し、オートファジー誘導の有無を LC3 の免疫染色で確認するとともに、細胞中の LC3 のタンパク量を Western blotting 法を用いて定量した。 その結果、メカニカルストレス（伸展力・圧縮力）ではオートファジー（LC3）の誘導は確認できず、低酸素分圧環境のみが有意に細胞におけるオートファジーの誘導及び LC3 タンパクの量を変化させた。

これらの結果から、矯正学的な歯の移動によって、圧迫側歯根膜にはアポトーシス性細胞死に先行してオートファジーが誘導されるが、このオートファジーは細胞が低酸素環境におかれることによって惹起されている可能性が示唆された。

（様式３）

氏　　名　：　笠　　法子

論 文 名　：矯正学的な歯の移動により歯根膜に誘導されるオートファジーに関する研究

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

矯正学的な歯の移動において、歯根膜線維芽細胞はメカニカルストレスのみならず血流変化による低酸素や栄養不足に曝されることから、細胞における生存・恒常性維持のメカニズムがダイナミックに変化していると考えられる。一方、真核細胞の細胞内タンパク分解機構の一つであるオートファジーは、一般的にメカニカルストレスや低酸素といった環境ストレスにより誘導され細胞の生存に関わることが知られている。歯根膜線維芽細胞において、歯の移動時には電子顕微鏡学的にオートファジーが誘導されることは知られているが、現在までにその誘導因子や歯根膜の細胞死との関連について検討した報告はない。本研究では、歯周組織における種々のストレスに対するオートファジー誘導因子を解明し、さらにオートファジーとアポトーシス性細胞死との関連を明らかにすることで、歯根膜線維芽細胞の適応システムの一端を解明することを目的とした。

まず 全身に GFP-LC3 融合タンパクを発現するトランスジェニックマウス（8-10 週齢）の左側上顎第一臼歯に超弾性コイルスプリングを装着し、3-24 時間 10 gf（9.8×10^{-2} N）の矯正力を負荷したのち、歯根膜におけるオートファジーマーカー（LC3）の局在、歯根膜中の低酸素状態の有無、およびアポトーシス性細胞死の多寡を組織学的に解析した。その結果、歯の移動開始 6 時間後までに、圧迫側歯根膜において LC3 の局在が顕著に誘導されたが、伸展側歯根膜においては LC3 の局在は検出できなかった。また、圧迫側歯根膜中のオートファジーが誘導されていた領域とほぼ一致する領域が、歯の移動開始から3-6時間後に低酸素状態になっていることが、 Hypoxyprobe™ の免疫染色にて確認された。加えて、圧迫側歯根膜における LC3 はアポトーシスに先行して誘導され、アポトーシスが亢進する歯の移動開始 24 時間後には LC3 の誘導は減少していた。つぎに、歯根膜組織におけるオートファジー誘導因子を明らかにするために、ヒト歯根膜線維芽細胞株を、様々な大きさの伸展力（0, 16, 33 % 伸展）、様々な大きさの圧縮力（0, 1.0, 3.0 gf/cm^2）、および低酸素分圧（～1 % pO_2）の下で一定時間培養し、オートファジー誘導の有無を LC3 の免疫染色で確認するとともに、細胞中の LC3 のタンパク量を Western blotting 法を用いて定量した。 その結果、メカニカルストレス（伸展力・圧縮力）ではオートファジー（LC3）の誘導は確認できず、低酸素分圧環境のみが有意に細胞におけるオートファジーの誘導及び LC3 タンパクの量を変化させた。

これらの結果から、矯正学的な歯の移動によって、圧迫側歯根膜にはアポトーシス性細胞死に先行してオートファジーが誘導されるが、このオートファジーは細胞が低酸素環境におかれることによって惹起されている可能性が示唆された。