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

Transforming growth factor-β-induced gene product-h3が歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について

芹田, 俊

https://hdl.handle.net/2324/1806937

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　：芹　田　俊

論 文 名　：Transforming growth factor-β-induced gene product-h3 が
　　歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について

区　　分　：甲

論　文　内　容　の　要　旨

歯髄組織は、生理的な状態では石灰化することはないが、う蝕や外傷など歯髄への傷害により歯髄細胞が象牙芽細胞へと分化して修復象牙質形成が促される。しかしながら、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。Transforming growth factor-β-induced gene product-h3（βig-h3）は細胞外基質タンパクの一つであり、骨芽細胞の成熟に対して抑制的に働く因子として報告されている。本研究では歯髄組織におけるβig-h3 の発現および歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について解析した。

Wistar ラット（8 週齢、雄性）の上顎第一臼歯を露髄後、MTA セメントで覆髄して直接覆髄モデルを作製した。歯髄組織におけるβig-h3、IL-1βおよび TNF-αの発現を免疫組織化学的染色法にて解析した。本研究への同意が得られた患者の抜去歯より歯髄組織を採取し、3- 8 継代培養した細胞をヒト歯髄細胞（HDPCs）として用いた。HDPCs におけるβig-h3 の発現を免疫蛍光抗体法にて解析した。HDPCs におけるレセプター遺伝子の発現を半定量的 RT-PCR 法にて解析し、さらにβig-h3 および象牙芽細胞関連遺伝子の発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した。HDPCs における石灰化物形成量を Alizarin red-S 染色法にて解析した。また HDPCs にβig-h3 siRNA を導入し、βig-h3 の発現抑制が象牙芽細胞様分化に及ぼす影響を解析した。

免疫組織化学的染色法による解析の結果、ラット歯髄組織におけるβig-h3 の発現を確認した。一方、MTA を用いた直接覆髄後の歯髄組織ではその発現が低下したが、炎症性サイトカインである IL-1βおよび TNF-αの発現は上昇した。HDPCs においてもβig-h3 の発現を認めたが、象牙芽細胞様分化誘導培地にて培養した結果、その発現が低下した。さらに HDPCs に IL-1βあるいは TNF-αを添加して培養した結果、βig-h3 の発現が低下し、石灰化物形成量が増加した。

次にβig-h3 が HDPCs に及ぼす機能について解析した。まず半定量的 RT-PCR 法にて HDPCs における、βig-h3 のレセプターであるインテグリンαv、β3、β5 の遺伝子発現を確認した。そこでリコンビナントヒトβig-h3 を HDPCs に添加した結果、象牙芽細胞関連遺伝子発現および石灰化物形成が抑制された。一方で siRNA によりβig-h3 の発現を抑制した結果、象牙芽細胞関連遺伝子発現が亢進した。

本研究の結果から、βig-h3 は、生理的条件下では歯髄細胞の象牙芽細胞分化を抑制し、一方で覆髄の際には、炎症性サイトカインによるβig-h3 の発現抑制によって、その分化を促進し、修復象牙質形成に関与している可能性が示唆された。これらの結果は、修復象牙質形成の詳細なメカニズムの解明に寄与するだけでなく、より予知性の高い歯髄保存療法の開発に繋がるものと思われる。