

論 文 内 容 要 旨

The effect of transforming growth factor- β 1 on the mineralization of human cementoblasts

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔統合医療学講座 木庭大槻

(指 導： 石井信之教授)

論文内容要旨

歯髄炎や根尖性歯周炎における歯周組織の治癒機序において、根尖孔のセメント質封鎖は理想的な治癒過程と考えられている。またその治癒機序には根尖孔、および歯根表面へのセメント芽細胞の遊走、細胞増殖、およびセメント質形成への分化誘導が必要である。TGF- β は広範な組織に分布し細胞増殖、分化、遊走、接着、細胞外マトリックス賛成などに関与し、組織の治癒に重要な役割を果たすサイトカインである。また骨の治癒過程において、細胞の分化レベルや周囲の環境に依存し、細胞の分化、増殖を制御しており、細胞種や他の増殖因子との共存で異なる応答が報告されている。本研究で対象とした、セメント芽細胞は、多分化能を有する未分化間葉系細胞を起源としセメント質へ分化する細胞であるが、ヒトセメント芽細胞に対する TGF- β 1 の影響に関する報告はない。本研究では TGF- β 1 がヒトセメント芽細胞の増殖と分化に対する影響を *in vitro* で解析し、歯内療法における根尖歯周組織の理想的な治癒過程に必要なセメント質形成における役割について解明することを目的とした。ヒトセメント芽細胞 (HCEM) は 100 U/ml ペニシリン G および 100 U/ml ストレプトマイシンを添加した α -minimum essential medium 中で、5%CO₂、37°C 条件下で培養した。HCEM 細胞に TGF- β 1 を 0.05、0.5、5、10ng/ml の濃度で刺激し、1 日目と 3 日目に細胞増殖試験を行った。TGF- β 1 の石灰化に対する影響を、石灰化培地、TGF- β 1 またはその両方で刺激した培地で HCEM を 7 日または 14 日培養し、アリザリンレッドで染色した面積を定量することで評価した。TGF- β 1 の石灰化関連遺伝子である、アルカリホスホターゼ、骨シアロタンパク、I 型コラーゲンの遺伝子発現への影響を石灰化培地、TGF- β 1 またはその両方で刺激した培地で HCEM を 7 日または 14 日培養しリアルタイム PCR 法を用い評価した。HCEM の細胞増殖に対し TGF- β 1 はいずれの濃度においても優位な差を示さなかった。TGF- β 1 と石灰化培地を併用することで石灰化培地単独と比較し、7 日目と 14 日目にアリザリンレッド染色領域が増加した。TGF- β 1 刺激を受けた HCEM 細胞では、3 日目と 7 日目に MM 中で ALP mRNA の発現が増加し、7 日目には骨シアルプロテインと I 型コラーゲンの mRNA の発現が増加した。今回の結果より TGF- β 1 は HCEM 細胞の増殖には影響を与えず、遺伝子発現では、骨芽細胞の成熟過程と同様の経過をたどっており、HCEM の分化を促進し、アリザリンレッド染色法では石灰化ノジュール形成や石灰化も促進することから、TGF- β 1 はセメント質の再生に重要な役割を果たしていることが示唆された。