

## 論文審査の結果の要旨

氏名：佐野麗美

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Compressive force induces the expression of osteoblast differentiation-related transcription factors via TGF- $\beta$ s signaling pathway in MC3T3-E1 cells  
(MC3T3-E1 細胞において圧迫力は TGF- $\beta$ s シグナル伝達を介して骨芽細胞分化関連転写因子の発現を誘導する)

審査委員：(主査) 教授 鈴木直人

(副査) 教授 清水典佳

教授 高橋富久

教授 前野正夫

歯科矯正治療において、歯に加える矯正力は、骨芽細胞、骨細胞および破骨細胞の分化と機能に影響をおよぼすことが知られている。従来の研究では、適度な圧迫力が、骨芽細胞への分化に不可欠な転写因子の発現を増加させるとともに、骨形成機能を促進することが報告されている。一方、transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 および TGF- $\beta$ 2 は、骨芽細胞の分化と機能に影響し、そのシグナルは下流因子である Smad2 と Smad3 のリン酸化促進によって伝達され、また、p38 MAPK などの Smad 非依存的なシグナル伝達因子のリン酸化促進も関与していることが知られている。しかし、圧迫力が負荷された際の骨芽細胞における TGF- $\beta$  発現やそのシグナル伝達の詳細、さらに、骨芽細胞分化関連転写因子発現との関連については明らかにされていない。そこで、本研究は、圧迫力が骨形成を誘導する過程における TGF- $\beta$  シグナル伝達と骨芽細胞分化関連転写因子の発現との関連性について明らかにすることを目的とした。また、TGF- $\beta$  受容体阻害剤 (LY2109761) を用いて、骨芽細胞に圧迫力を負荷した際の TGF- $\beta$  の発現や、Smad2、Smad3 および p38 MAPK のリン酸化、さらに骨芽細胞分化関連転写因子である Runx2、Osterix および Msx2 の発現についても検討した。実験は、マウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 細胞を使用し、細胞に 1.0 g/cm<sup>2</sup> または 2.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力を負荷し、1, 3, 6 および 9 時間培養した。細胞から遺伝子およびタンパクを抽出し、遺伝子発現は real-time PCR 法、タンパク発現およびリン酸化については Western blotting 法にて調べ、以下の結論を得た。

1. 1.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷後 3 および 6 時間の TGF- $\beta$ 1 と TGF- $\beta$ 2 の遺伝子およびタンパク発現は、コントロールおよび 2.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷に比較して有意に増加した。一方、受容体の遺伝子発現は、コントロールと有意差を認めなかった。
2. 1.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷後 6 時間の Smad2、Smad3 および p38 MAPK のリン酸化は、コントロールおよび 2.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷に比較して有意に増加した。
3. 1.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷後 3 および 6 時間の Runx2、Osterix および Msx2 の遺伝子およびタンパク発現は、コントロールおよび 2.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷に比較して有意に増加した。
4. 1.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力負荷で増加した Smad2、Smad3 および p38 MAPK のリン酸化および Runx2、Osterix および Msx2 の発現は、LY2109761 の前処理によってコントロールレベルまで減少した。

以上の結果から、骨芽細胞様細胞への 1.0 g/cm<sup>2</sup> 圧迫力負荷によって誘導される TGF- $\beta$  は、その autocrine 作用によって Runx2、Osterix および Msx2 などの骨芽細胞の分化を促進する転写因子の発現を増加させることが示唆された。さらに、1.0 g/cm<sup>2</sup> の圧迫力によるこれらの骨芽細胞分化関連転写因子の発現増加には、TGF- $\beta$  受容体の下流に位置する Smad 依存性および Smad 非依存性のシグナル伝達経路も関与することが明らかになった。

これらのことは、適度な圧迫力負荷が骨芽細胞の分化に影響し TGF- $\beta$  のシグナルを介して骨形成促進に作用することを示しており、歯科矯正学の発展に寄与するところ大であると思われる。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

平成 29 年 3 月 8 日