

論文審査の結果の要旨

氏名：鳥 越 剛

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：BzATP induces extracellular matrix proteins synthesis via the PYK2-ERK pathway

(BzATP は PYK2-ERK 経路を介して細胞外マトリックスタンパク合成を促進する)

審査委員：(主 査) 教授 高 橋 富 久

(副 査) 教授 清 水 典 佳

教授 白 川 哲 夫

教授 鈴 木 直 人

メカニカルストレスは成人において骨量の維持や骨の強度に影響を及ぼす主要な因子であり、医科及び歯科領域で骨折の治療や矯正歯科治療に応用されている。アデノシン三リン酸 (ATP) は、伸展、流水剪断、培地交換あるいは浸透圧等のメカニカルストレスによって様々な細胞で細胞外に放出され、G タンパク共役型受容体の P2Y ファミリーやリガンド依存性チャネル型受容体である P2X ファミリーの ATP 結合プリン作動性受容体に結合し、様々な生物活性を誘導することが知られている。2'(3)-O-(4-Benzoylbenzoyl)adenosine-5'-triphosphate (BzATP) はチャネル型受容体である P2X7 受容体の特異的アゴニストであり、BzATP がマウス由来骨芽細胞において骨形成を誘導することが報告されている。マウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を用いた *in vitro* の実験で、伸展力や低出力超音波が P2X7 受容体を介して細胞外マトリックスタンパク (ECMP) の発現及び骨形成を促進することが報告されている。また、proline-rich tyrosine kinase2 (PYK2) はインテグリンのシグナル伝達に関与し、またインテグリンはメカニカルストレス誘導性 ERK によって活性化される。しかしながら、骨芽細胞の ECMP 発現における BzATP と PYK2 との相互作用については明らかにされていない。そこで本研究は、BzATP によって誘導される骨芽細胞の ECMP 産生に対する PYK2 の影響を細胞生物学的及び分子生物学的に検討した。

MC3T3-E1 細胞を 6 ウェルプレートに播種した後、BzATP および PYK2 阻害剤 PF431396 の存在または非存在下で、最大 14 日間培養した。培地は 3 日おきに交換した。ECMP である type I collagen (Col I), bone sialoprotein (BSP), osteopontin (OPN), osteocalcin (OCN) の遺伝子発現は real-time PCR 法で、またこれらの ECMP のタンパク発現と PYK2 および ERK のリン酸化 (p-PYK2 と p-ERK) は Western blotting 法で調べた。

その結果以下の結果を得た。

1. 培養 3, 7 日目において BzATP はコントロールと比較して p-PYK2 の発現を有意に増加させた
2. BzATP はコントロールと比較して p-ERK を有意に増加させる一方で、PYK2 阻害剤 PF431396 の添加は p-ERK2 発現に対する BzATP の影響を抑制した。
3. BzATP はコントロールと比較して Col I, BSP, OPN および OCN の mRNA 発現を有意に増加させた。一方で、PYK2 阻害剤 PF431396 は Col I, BSP, OCN の mRNA 発現に対する BzATP の影響を抑制した。また、タンパク発現も同様の結果が得られた。

以上のことから、メカニカルストレスによって産生される ATP は PYK2-ERK 経路を介して ECMP の発現を誘導する可能性が考えられた。また、この経路にインテグリンが関与していることが示唆された。

本論文は矯正治療における歯の移動のメカニズムを明らかにする上で重要な基礎的知見を提供するものである。

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 30 年 3 月 7 日