

2. 公募研究

8) 歯髄細胞の歯根膜細胞への分化誘導に関わる機能タンパク質同定のためのプロテオーム解析

研究代表者：吉田 光希（歯学部 生体機能・病態学系 臨床口腔病理学分野/講師）

研究分担者：Durga Paudel（先端研究推進センター/助教）

森川 哲郎（歯学部 生体機能・病態学系 臨床口腔病理学分野/助教）

【背景】

歯周組織の再生療法としてエムドゲインを初め GTR などがあるが、いずれも残存する健全な歯根膜を増殖させ、再生を目指すものであり、重度歯周炎等で残存する歯根膜が僅かな場合、再生は極めて困難である。その為、重度歯周炎では新たに歯根膜を形成させる必要があるが、これまでに有効な方法は確立されていない。歯を取り巻く組織で、歯根膜と同様に間葉系組織から構成されているものに歯髄がある。歯髄と歯根膜は、線維芽細胞を主体とした複数の細胞集合体であり（以下それぞれ歯髄細胞、歯根膜細胞とする）、それぞれ幹細胞が存在する等共通点もあるが、マラッセ上皮遺残の有無や、形態・機能等に違いもある。

【目的】

本研究では、歯髄細胞を歯根膜様細胞へ分化誘導する因子を明らかとする為に、歯髄細胞の培養上清と歯根膜細胞の培養上清の含有タンパク質の違いについてプロテオーム解析を行い、その候補タンパク質を同定することを目的とする。

【研究方法】

本研究ではまず、北海道医療大学歯科クリニックを受診された智歯抜去症例の患者様への説明と同意のもと、抜去歯から歯髄と歯根膜を採取し α MEM 培地で培養を行った（本学歯学部研究倫理審査委員会承認番号第 179 号）。次に、培養歯根膜細胞から歯根膜培養上清を回収した。その後、培養条件を①歯根膜培養上清で培養した歯髄細胞群、② α MEM 培地で培養した歯髄細胞群、③ α MEM 培地で培養した歯根膜細胞群、として培養後に total RNA を抽出し、次世代シーケンサーによる RNA 発現網羅的解析 (RNA sequence) を行った (Rhelixa、東京)。

【研究結果および考察】

RNA sequence の結果、①歯根膜培養上清で培養した歯髄細胞群と② α MEM 培地で培養した歯髄細胞群との間に著明な遺伝子発現変化は認められなかった。しかしながら、② α MEM 培地で培養した歯髄細胞群と③ α MEM 培地で培養した歯根膜細胞群を比較した結果、Differentially expressed genes (DEGs) 解析において大きな発現変化を示した上位遺伝子に、Keratin 14 と Keratin 16 が認められた。これらの遺伝子は、歯根膜には存在するが歯髄には存在しないマラッセ上皮遺残で発現する遺伝子である (Rincon et al. The epithelial cell rests of Malassez—a role in periodontal regeneration? J Periodontal Res. 2006)。

さらに本研究成果は、マラッセ上皮遺残細胞と歯髄細胞を応用して歯根膜様細胞への分化誘導を行った研究である我々の報告に裏付けられた、理にかなったデータであることが確認された (Onishi, Yoshida, Morikawa, Paudel et al. Induction of Periodontal Ligament-like Cells by Coculture of Dental Pulp Cells, Dedifferentiated Cells Generated from Epithelial Cell Rests of Malassez, and Umbilical Vein Endothelial Cells. J Endod. 2022)。

本研究成果は、これまでほとんど報告のみられない、ヒトの同一抜去歯から採取した歯髄と歯根膜との機能遺伝子の違いを明らかにしたものであり、学術的価値は高いものと考えられた。

本研究成果をもとに学術誌への論文投稿を予定しているため詳細なデータの記載は割愛するが、今後は引き続き、本研究で明らかとなった歯髄細胞と歯根膜細胞での機能遺伝子の違いを応用したうえで、歯髄細胞の歯根膜様細胞への分化誘導研究を行なっていく予定である。