

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K23115

研究課題名（和文）シュワン細胞由来の因子を用いた新規歯周組織再生療法の開発

研究課題名（英文）Development of new periodontal treatment using Schwann cell-derived factor
Schwann cell-derived factor

研究代表者

糸山 知宏 (Itoyama, Tomohiro)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50884433

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：重度の歯周炎や外傷等により傷害を受けた歯周組織では、歯の支持組織である歯槽骨吸収が進行して抜歯に至るケースも少なくない。広範囲に喪失した歯周組織を効率よく再生することができる治療法の開発が望まれている。申請者らは、シュワン細胞が傷害を受けた歯周組織に集簇すること、シュワン細胞株の培養上清が、歯根膜細胞株の培養上清と比較して、前骨芽細胞ならびに歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を有意に促進することを明らかにしており、この作用を有する因子は同定されていない。本研究では、YST-1細胞の培養上清を用いてプロテオーム解析を行い、VGFが因子の第一候補として同定された。今後詳細な解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

重度の歯周炎や外傷等により傷害を受けた歯周組織では、歯の支持組織である歯槽骨吸収が進行して抜歯に至るケースも少なくない。広範囲に喪失した歯周組織を効率よく再生することができる治療法の開発が望まれている。本研究では、前骨芽細胞および歯根膜幹細胞を骨芽細胞に誘導する因子の同定を目的とし、新たな歯周組織を再生する治療法の開発につながる知見を得ることが学術的および社会的意義である。

研究成果の概要（英文）：In periodontal tissues damaged by severe periodontitis or trauma, alveolar bone resorption, which is the supporting tissue for teeth, progresses, leading to tooth extraction in many cases. It is desirable to develop a treatment method that can efficiently regenerate periodontal tissues that have been extensively lost. The applicants have shown that Schwann cells collect in injured periodontal tissues and that culture supernatants of Schwann cell lines significantly promote osteoblastic differentiation of preosteoblasts and periodontal ligament stem cells compared to those of periodontal ligament cell lines, but factors having this effect have not been identified. In this study, the culture supernatant of YST-1 cells was subjected to proteomic analysis, and VGF was identified as the first candidate for the factor. Detailed analysis will be performed in the future.

研究分野：歯科保存学

キーワード：シュワン細胞

1. 研究開始当初の背景

重度の歯周炎や外傷等により傷害を受けた歯周組織では、歯の支持組織である歯槽骨吸収が進行して抜歯に至るケースも少なくない。現状では、人工膜を応用した Guided Tissue Regeneration 法 (GTR 法; Nyman et al. J Clin Periodontol, 1982) や、Enamel Matrix Derivative (EMD; Hammarstrom et al. J Clin Periodontol, 1997) ならびに Fibroblast Growth Factor 2 (FGF2; Murakami et al. J Periodontal Res, 2003) を用いた歯周組織再生療法が臨床応用されている。しかしながら、これらの治療法は適応できる症例に限られており、広範囲に喪失した歯周組織を再生することは困難である。したがって、喪失した歯周組織を効率よく再生することができる治療法の開発が望まれている。

末梢神経系を構成するシュワン細胞は、神経軸索の髄鞘形成に関与し、また損傷を受けた神経回路の再生に寄与することが報告されており (Namsung. Cells Tissues Organs, 2014)、近年、末梢組織の治癒および再生の牽引役として注目されている (Carr et al. Curr Opin Neurobiol, 2017)。これまでにシュワン細胞は、傷害を受けた皮膚や四肢の末端に集簇し、transforming growth factor β (TGF- β) や platelet-derived growth factor AA (PDGF-AA) ならびに oncostatin M (OSM) といった成長因子を分泌することによって、組織の治癒および再生を促進することが報告されている (Parfejevs et al. Nat Commun, 2018; Johnston et al. Cell Stem Cell, 2016)。

申請者らはこれまでに、シュワン細胞が傷害を受けた歯周組織に集簇すること (糸山ら, 第 150 回日本歯科保存学会, 2019)、またシュワン細胞株 (YST-1 細胞; Nagashima et al. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol, 1990) の培養上清が、当研究室で樹立した歯根膜細胞株 (1-17 細胞; Tomokiyo et al. Differentiation, 2008) の培養上清と比較して、前骨芽細胞ならびに歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を有意に促進し、これには ERK のリン酸化が関与していることを明らかにしている (Itoyama et al. J Periodontal Res, 2020)。ゆえに YST-1 細胞の培養上清には、骨芽細胞分化促進因子が含まれることが推察された。したがって、このような因子を同定し解析することによって、骨を含め広範囲に喪失した歯周組織を再生する治療法の開発が可能になると想起するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、末梢組織再生に重要な役割を果たすシュワン細胞由来の骨芽細胞分化促進因子を同定し、その因子を用いた新規歯周組織再生療法の開発を目的としている。本研究では、シュワン細胞の培養上清を用いた網羅的解析によって、骨芽細胞分化促進作用を有する因子を検出し、その因子の骨芽細胞分化促進能ならびに骨形成能について、in vitro ならびに in vivo 両面から詳細な解析を行う。シュワン細胞が歯周組織再生に及ぼす影響についての報告はこれまでになく、申請者が独自に進めるものである。また、この因子を同定し、生体における歯周組織再生において有用であることを明らかにすることによって、新規の歯周組織再生療法を開発することが本研究の創造性としてあげられる。

3. 研究の方法

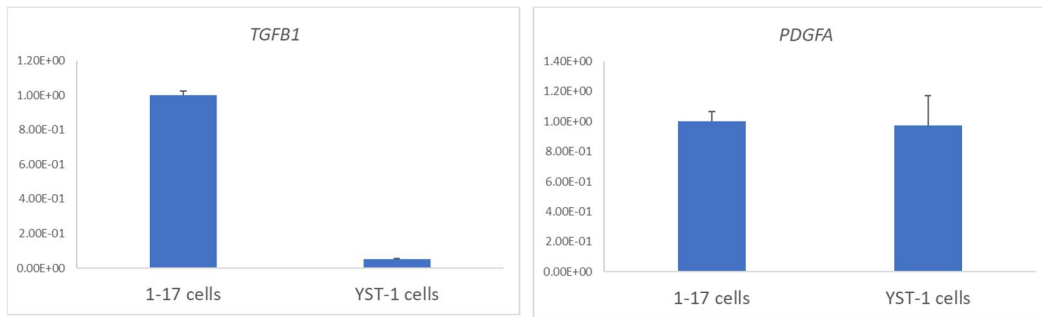
因子の探索：過去の文献から、シュワン細胞が分泌し、組織の治癒・再生を促進する因子 (TGF- β , PDGF-AA, OSM) の発現をシュワン細胞株である YST-1 細胞での発現を、未分化なヒト歯根膜細胞株である 1-17 細胞と比較して検討した。

因子の同定：YST-1 細胞と 1-17 細胞の培養上清をポリアクリルゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を用いて、たんぱくを分離した。銀染色法を用いて、ゲルのたんぱくを染色し、YST-1 細胞の培養上清で発現の高いバンドを切り出し、プロテオーム解析 (コスモバイオ) を行った。

4. 研究成果

因子の探索：これまでの報告から、シュワン細胞が分泌し、組織の治癒・再生を促進する因子 TGF- β , PDGF-AA, OSM の遺伝子発現 (*TGFB1*, *PDGFA*, *OSM*) を検討した。*TGFB1* においては、1-17 細胞と比較して、YST-1 細胞では発現が低下した。また、*PDGFA* に関しては両群において差はなかった。*OSM* に関しては両群において、発現を認められなかった。(図 1)

図 1



因子の同定：YST-1細胞と1-17細胞の培養上清をポリアクリルゲル電気泳動 (SDS-PAGE) を用いて、たんぱくを分離した。銀染色法を用いて、ゲルのたんぱくを染色し、YST-1細胞の培養上清で発現の高いバンドを切り出し、プロテオーム解析 (コスモバイオ)を行った。

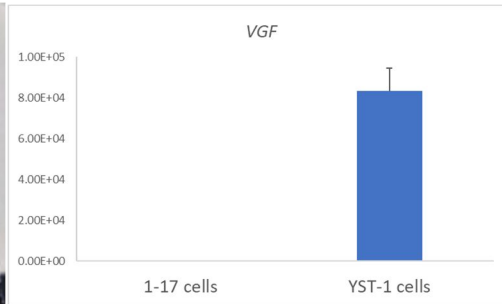
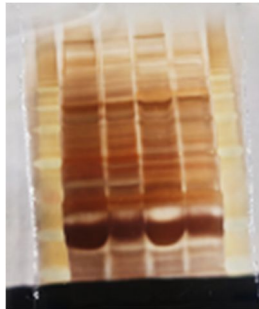


図 2

その結果 VGF が第一候補因子として、同定された。YST-1細胞での VGF の遺伝子発現を確認した結果、1-17細胞と比較して、発現の上昇を認めた。(図 2)

現在は、VGF をノックダウンした YST-1細胞作製中であり、その細胞の培養上清を用いて、前骨芽細胞および歯根膜幹細胞を刺激し、骨芽関連因子の発現および石灰化物形成能および ERK1/2 のリン酸化を検討していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------