

論文審査の要旨

報告番号	総研第	4171号	学位申請者	古江 きらら
審査委員	主査	松口 徹也	学位	博士 (医学・ <u>歯学</u> ・学術)
	副査	佐藤 友昭	副査	南 弘之
	副査	徳田 雅行	副査	白方 良典

Involvement of the phosphoinositide 3-kinase/Akt signaling pathway in bone morphogenetic protein 9-stimulated osteogenic differentiation and stromal cell-derived factor 1 production in human periodontal ligament fibroblasts

(Bone morphogenetic protein 9 刺激によるヒト歯根膜線維芽細胞の骨分化および SDF-1 産生における PI3K/Akt 経路の関与)

Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) は強力な骨分化誘導能を有し、歯周炎により失われた歯槽骨の再生に役立つと考えられるが、歯根膜線維芽細胞における BMP9 の作用機序については解明されていない。そこで学位申請者らは、ヒト歯根膜線維芽細胞を用いて、リコンビナントヒト BMP9 に対する骨分化および stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) 産生における、phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt 経路の関与を検討した。骨分化の指標としてはアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、骨分化マーカー遺伝子発現 (id1, runx2, osterix, osteopontin, bone sialoprotein) の real-time PCR 法による測定を行った。SDF-1 のタンパク産生については ELISA 法による測定を行い、遺伝子発現については real-time PCR 法により SDF-1 スプライスバリエントである SDF-1 α 、 β 、 γ について検討した。PI3K の関与については選択的阻害剤である LY294002 (以下 LY) を使用し、Akt の活性化については Western blot 法により BMP9 添加後の Akt のリン酸化を検討した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) BMP9 添加後 30 および 60 分において Akt のリン酸化の亢進が認められた。
- 2) BMP9 による ALP 活性が亢進し、その亢進は LY 添加により抑制された。
- 3) BMP9 により発現が亢進した骨分化マーカー遺伝子は LY 添加により抑制された。
- 4) BMP9 による SDF-1 タンパク産生が亢進し、その産生亢進は LY 添加により抑制された。
- 5) BMP9 により発現亢進した SDF-1 は、スプライスバリエントの中で SDF-1 α であった。

ヒト歯根膜線維芽細胞への BMP9 添加による骨分化の促進および SDF-1 産生の亢進への PI3K/Akt 経路の関与が示唆された。また、SDF-1 は幹細胞の創傷治癒部位への集積に関わることが知られており、本研究から BMP9 は PI3K/Akt 経路を介して歯周組織の骨分化を促すだけでなく、SDF-1 を介して歯周組織の再生を促す可能性が示唆された。今後、*in vivo* での動物実験などを通して、生体内における機能の解明が必要である。

本研究は歯根膜組織における BMP9 の作用機序への PI3K/Akt 経路の関与を示した点で非常に興味深い。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。