

論文内容要旨

論文題名 Establishment of mouse gingival junctional epithelial cell line using a bioengineered tooth system

(人工再構成歯胚技術を用いたマウス歯肉接合上皮細胞株の樹立)

掲載雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications
in press

歯周病学 関 辰明

内容要旨

歯周組織を構成する接合上皮 (JE) は、他の歯肉上皮とは異なる構造、機能を有しており、口腔内細菌に対して最前線での感染防御の役割を果たし、この上皮が破壊されることが歯周病進行のきっかけとなる。しかし、JE は確立された有力な細胞株が存在しないために、組織・解剖学的な研究が大部分を占めており、その性質には未だに不明瞭な部分が残されている。細胞株が存在しない理由として、JE には明確な細胞マーカーが同定されていないため、周囲組織から単離・回収することが困難なことが挙げられる。過去に我々は、マウスにおける再構成歯胚技術を用いて、GFP マウス由来歯原性上皮細胞および野生型マウス由来間葉系細胞からなる再構成歯胚を作製し、JE の起源が GFP 陽性の歯原性上皮細胞であることを明らかにした。この手法を用いることで、再構成歯胚から JE 細胞を GFP 陽性細胞として単離することができると考えた。そこで本研究の目的は、再構成歯胚由来の GFP 陽性 JE 細胞を回収して、その不死化細胞を樹立することとした。

始めに、再構成歯周囲に観察された GFP 陽性細胞が天然歯の JE と同様の特性を示すかどうかを明らかにするために、GFP 陽性細胞をフローサイトメトリーにより回収し、RNA シークエンスを用いて遺伝子の網羅的解析を行った。その結果は、GFP 陽性細胞において、天然歯の JE にて発現が報告されている *Odam*、*Krt17*、*Icam1* の遺伝子発現が、口蓋歯肉上皮細胞と比較して上昇していた。つまり、GFP 陽性細胞の遺伝子発現は天然歯の JE と類似しており、GFP 陽性細胞が JE の細胞源として利用可能であることが示唆された。

この GFP 陽性細胞に対して、レンチウイルスを用いて SV40 large T を遺伝子導入して細胞の不死化させ、限界希釈法を用いて単一細胞由来の不死化した GFP 陽性 JE 細胞を作製した。その後、不死化細胞として安定しているかどうか、またその遺伝子発現様式をリアルタイム PCR 法により解析した。結果として、2つの不死化細胞株を確立することに成功した (JE-1 および JE-2)。樹立した 2つの細胞株は、GFP 陽性かつ上皮様の形態を示した。また細胞老化を起こすことなく、少なくとも 20 継代まで良好に増殖し、安定した細胞株であることが示唆された。さらに、2つの細胞株が、過去の研究にて JE 細胞で報告されている遺伝子発現と類似した遺伝子発現を示した。その中には歯原性上皮の特異的マーカーとして報告されている *Krt19* や、好中球の移動のための重要な接着分子である *Icam1* の発現も認められた。これらのことから、作製した 2つの細胞株は、JE の機能を有している細胞株である可能性が示唆された。

本研究では、JE の細胞株の樹立に初めて成功した。今後、これらの細胞の詳細は機能について解析が必要であるが、作製した細胞株 JE-1 と JE-2 は、JE の生物学的な機能解明の研究、さらには歯周病研究における有用な細胞源であると考えられる。