

論文要旨

氏名	西藤 法子
<p>論文の要旨</p> <p>[目的]</p> <p>アメロプラスチンはエナメルマトリックスタンパクの1つで、エナメル質形成に関与しているとされており、エナメル芽細胞のみならず、骨芽細胞、セメント芽細胞、マラッセの残存上皮といった歯周組織の細胞においても発現が報告されている。一方、歯周組織再生に頻用されているエムドゲイン®に含まれるアメロプラスチンが、上皮細胞増殖抑制効果を有していることが明らかにされている。しかし、アメロプラスチンが不安定なタンパクであることから、リコンビナントタンパクを用いて細胞に対する影響や機能について検討した報告は少ない。そこで、新規のタグを用いることで効率良くリコンビナントアメロプラスチンを精製する方法を確立し、<i>in vitro</i>においてアメロプラスチンが上皮細胞の細胞増殖に与える影響を調べた。</p> <p>[材料および方法]</p> <p>アメロプラスチン発現ベクターpFNA21A を調製し、COS-7 に NEPA21 Super Electroporator を用いて遺伝子導入を行った。導入後の細胞抽出液から HaloTag®システムおよび HPLC を利用してリコンビナントアメロプラスチンを精製した。精製の確認は抗アメロプラスチンポリクローナル抗体と、我々の研究グループで新たに作製したモノクローナル抗体を用いて Western blot 法で解析した。精製タンパクをヒト扁平上皮癌細胞株である SCC-25 へ添加し、培養を行い、細胞増殖を WST-1 assay、細胞周期を FACS で検討した。</p> <p>[結果]</p> <p>今回、新たな導入法を用いることで、実験に利用可能な十分量かつ純度の高いヒトのリコンビナントアメロプラスチンを精製することができた。生物学的活性を確認したところ、精製したアメロプラスチンで刺激した SCC-25 は、WST-1 assay で濃度依存的に細胞増殖抑制効果を示し、FACS で subG1 に含まれる細胞数の増加が認められた。</p> <p>[結論]</p> <p>新規タグおよび HPLC を用いて精製したアメロプラスチンが、純度の高いタンパク質であることを確認することができた。今回、精製したアメロプラスチンは G1 期における細胞周期の停止を誘導することで、上皮細胞の増殖を抑制することが明らかとなった。以上の結果から、歯周組織に発現したアメロプラスチンが歯周炎のポケット形成における上皮細胞の深行増殖を抑制する可能性が強く示唆された。</p>	

