

5-2-48 口腔組織の病態解明と遺伝子導入による口腔環境の改善

＜研究概要＞

唾液には、細胞増殖因子や殺菌作用物質などが多種類含まれ口腔環境の維持に多彩な機能を果たしている。高齢化に伴って、口腔組織の創傷治癒や口腔感染症が増大するといわれており、唾液腺細胞株を用いて、老化の実験モデルとして、活性酸素で作用させてアポトーシスへの影響を調べた。また、老化によって変動する遺伝子発現をモニターすることで、口腔機能を回復を目的にした唾液腺への遺伝子治療の標的遺伝子を同定することは意義がある。6,500 遺伝子の GeneChip 解析と重複しない遺伝子を多数含む 8,300 遺伝子の DNA マイクロアレイを用いてマウス顎下腺の老化で発現変化する遺伝子をトランスクリプトーム解析を行った。さらに、骨芽細胞株に老化モデルとして活性酸素を刺激して、GeneChip 解析、プロテオーム解析を行った。HSG 細胞への活性酸素刺激によって TUNEL 検出法でアポトーシス細胞が認められ、caspase 3 の免疫組織染色によっても確認された。GeneChip, cDNA マイクロアレイ UniGEM V を用いて neonatal と aged のラット顎下腺中で発現している遺伝子の mRNA レベルをトランスクリプトーム解析した結果、多数の変動遺伝子が見いだされた。成長因子 12 遺伝子の加齢による遺伝子発現変化では、TGF- β 遺伝子で 2.1 倍、インスリン様成長因子 1(IGF-I)遺伝子で約 2 倍の低下がみられた。このマイクロアレイ解析の IGF-1 遺伝子の変動は、real-time PCR 法によって確認された。さらに、ラット顎下腺をホモジナイズして IGF-I 量を ELISA 法で測定したところ、タンパク質量あたりの IGF-I は、加齢によって減少していた。GeneChip, DNA マイクロアレイの応用によって、顎下腺組織中で加齢によって遺伝子発現が減少する遺伝子の網羅的同定が可能であることが分かった。とくに老化で TGF- β , IGF-I 遺伝子が発現低下することが示唆されたことから、これらの成長因子遺伝子の唾液腺組織への遺伝子導入は、生理機能の回復あるいは改善に意義あるものと考えられる。新たに作成した β -Defensin-2 モノクローナル抗体は、細菌感染など口腔組織の病態変化における β -Defensin-2 の産生量をモニターするのに有用なモノクローナル抗体になると考えられる。

＜得られた知見＞

口腔組織の健康維持に大きな役割を果たす、唾液腺の老化に伴う遺伝子発現変化を半網羅的にトランスクリプトーム解析を行い、将来、遺伝子治療によって機能回復させる遺伝子として TGF- β , IGF-I が特定できた。老化機序で重要な活性酸素を基盤にして、唾液腺細胞と骨芽細胞で実験モデルを構築し、唾液腺細胞ではアポトーシスの誘導が明らかとなった。一方、骨芽細胞では老化モデルとして活性酸素を刺激して、GeneChip 解析、プロテオーム解析を行い、ユビキチン系タンパク質やインテグリン結合骨シアロタンパク質など骨芽細胞の機能を抑制し得る分子が特定できた。また、口腔組織の病態変化における β -Defensin-2 の産生量をモニターするのに有用なモノクローナル抗体の作成に成功した。