

論文名：Transient Over Expression of Heat Shock Protein 27 Reduces Apoptotic Reaction of Osteoblasts without Affecting the Differentiation Capacity

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 北見 恩美

インプラント前処置として行われる骨増成法では、増殖因子やスキャホールドと共に、細胞を用いる方法が有効であるとされている。しかしながら、移植時の種々のストレスにより、移植細胞の生着は抑制され、その効果が制限されていると考えられている。細胞はストレスにさらされると、細胞内にストレスタンパク質である Heat shock proteins (HSPs) を産生することが知られ、この中でも分子量 27 kDa の HSP27 は、抗アポトーシス作用を示すことが知られている。そこで我々は移植細胞において HSP27 を過剰発現させてストレスへの耐性を向上し、細胞の生着を促進することによって、より効果的な骨増成が期待できるのではないかとこの着想に至った。本研究の目的は、骨芽細胞における HSP27 の一過性過剰発現が骨芽細胞の生存と分化に与える影響を解析することである。さらに HSP27 過剰発現骨芽細胞を頭蓋骨に形成した欠損部に移植し、移植細胞の生存と骨形成能について評価した。

骨芽細胞株 MC3T3-E1 に一過性に HSP27 の過剰発現を行ったところ、骨芽細胞増殖能には影響を及ぼさなかった。骨芽細胞分化については、HSP27 過剰発現により Runx2/Cbfa1 遺伝子の発現量は増加したものの、Alpl 遺伝子は減少していた。ALP 活性および石灰化能に影響は認められなかった。また、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> および TNF-alpha に誘導されるアポトーシスへの影響を解析したところ、HSP27 の過剰発現は H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> に誘導されるアポトーシスを有意に抑制したものの、TNF-alpha に誘導されるアポトーシスの抑制について統計的有意差は認められなかった。さらに、HSP27 過剰発現骨芽細胞のラット頭蓋骨欠損部への移植実験では、移植 7 日後には、移植野への血管新生と活発な骨形成が認められた。移植野におけるアポトーシスを TUNEL 染色にて検出したところ、3 および 7 日後においては HSP27 過剰発現により TUNEL 陽性細胞率が有意に減少していた。細胞増殖能を示す PCNA 陽性細胞率は移植 7 日後において HSP27 過剰発現細胞が有意に高値を示した。移植 4, 6 週後の移植野における新生骨量をマイクロ CT にて解析したところ、両群間において有意差は認められなかった。

本研究では抗アポトーシス遺伝子である HSP27 を移植骨芽細胞に導入して、より効果的な骨増成を期する試みを行ったが、細胞の生存率は向上したものの、最終的な新生骨量に変化は見られなかった。骨形成能を有する細胞の移植は盛んに試みられているものの、本研究結果でも見られるように、その効果については依然として議論が分かれるところである。移植細胞の生存率を改善することによる効率的な骨増成を今後臨床応用に直接結び付けるためには、より長期的な解析と、骨形成の場における移植細胞の直接的な寄与についても検討することが必要であろう。