

論文内容の要旨

論文提出者	利光 拓也
論文題目	Susceptibility of the Wnt/ β -catenin Pathway Accelerates Osteogenic Differentiation of Human Periodontal Ligament Stem Cell Spheroids
<p style="text-align: center;">研究目的</p> <p>単層培養と比較して、スフェロイド培養は幹細胞の分化能を促進することが報告されている。スフェロイド培養での分化亢進は、インテグリン・シグナル経路の活性化が関与することが推測される。インテグリン経路の活性化は骨分化の誘導機序の一つである Wnt/β カテニン・シグナル経路との相互作用を展開する可能性が示唆されている。本研究ではヒト由来歯根膜幹細胞 (HPLSCs) をスフェロイド培養し、インテグリンを介した Wnt/β カテニン・シグナル経路の感受性亢進が骨分化促進に関与するかを検討した。</p> <p style="text-align: center;">方法</p> <p>HPLSCs を低接着性 96well プレートに播種し、スフェロイドを作製した。骨分化誘導を施した HPLSC スフェロイドおよび平面培養 HPLSC 細胞における骨分化能の比較をした。さらにインテグリン・シグナル経路関連因子の発現解析を、免疫細胞染色および western blotting (WB) 法で行った。Wnt/β カテニン・シグナル経路の感受性に関しては、Wnt3a 添加によるシグナルの活性化または Dkk-1 添加によるシグナル阻害を行った HPLSC スフェロイドで ALP 活性染色、免疫細胞染色および WB を行った。</p> <p style="text-align: center;">結果・考察</p> <p>HPLSCs スフェロイドにおいて Osterix と Runx2 の発現亢進および ALP 活性染色の増強がみられた。また、スフェロイドにおいてはインテグリン β 1 及び p-FAK 発現の亢進も認めた。この結果は、HPLSC スフェロイドでは FAK を介したインテグリン・シグナル経路が活性化し、骨分化誘導が亢進したと考えた。</p> <p>Wnt3a 添加により、Wnt/β カテニン・シグナル経路を活性化させると、Osterix と Runx2 発現の亢進および ALP 活性染色の増強がみられた。これらの結果は Wnt シグナル阻害因子である Dkk-1 添加により抑制された。以上のことから、スフェロイド培養によりインテグリン・シグナル経路が活性化された HPLSCs は、Wnt/β カテニン・シグナル経路の感受性が促進し、それに伴い、骨分化誘導が亢進されたと推測した。</p> <p style="text-align: center;">結論</p> <p>HPLSCs スフェロイドにおける骨分化誘導の促進は、インテグリン/FAK・シグナル経路を介した Wnt/β カテニン・シグナル経路の感受性亢進によることが示唆された。</p>	