

学位研究紹介

EGF/EGFR 軸とその下流のシグナル伝達経路は口腔粘膜上皮角化細胞の運動能と増殖能を制御する

The EGF/EGFR axis and its downstream signaling pathways regulate the motility and proliferation of cultured oral keratinocytes

新潟大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面口腔外科学分野

小林 亮太

Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry
& Graduate School of Medical and Dental Sciences

Ryota Kobayashi

【背景および目的】

近年目覚ましい発展を遂げる再生医療において、自家口腔粘膜上皮角化細胞シートを角膜、食道などへ移植する細胞治療が世界的に普及し、口腔粘膜上皮角化細胞は再生医療を実践する貴重な細胞資源として注目を浴びている。一方で、患者の口腔内から採取できる口腔粘膜組織量は限られており、初代培養であることから細胞の大量培養は難しい。さらなる再生医療の発展のためには、より効率的に細胞を増やす技術の確立が急務である。加えて、移植される細胞は再生医療を実践する製品である以上、細胞の品質を担保、管理する技術の開発が求められる。我々は以前、オプティカルフロー（OF）を用いた非侵襲的イメージング技術により、細胞品質を非侵襲的に評価できる技術を開発し、細胞運動能が細胞増殖能および上皮再生／分化能と相関することを明らかにした。しかし、口腔粘膜上皮角化細胞の運動能と増殖能を制御する分子生物学的メカニズムはまだ解明されていない。

運動能と増殖能という二つの細胞機能を調節するメカニズムが明らかになれば、薬理学的操作により、細胞の安全かつ効率的な大量培養技術の開発につながると考えた。そこで本研究では、EGF/EGFR シグナル経路に着目し、その下流の細胞内シグナル伝達経路を検討することで、口腔粘膜上皮角化細胞の運動能、増殖能を制御、調節する分子基盤を解明することを目的とした。

【材料および方法】

インフォームドコンセントを得た患者歯肉から単離した、p2 から p5 の口腔粘膜上皮角化細胞を 6well プレートに 7～10 万個播種し、細胞密度が 40% のところで、分子特異的な阻害剤を加えてから 24 時間から 36 時間後にタイムラプス撮影を実施した。タイムラプス撮影動画解析により、平均運動速度（Mean Motion Speed, MMS）を算出して運動能を解析し、撮影後は、セルカウントにより Population Doubling Time (PDT) を算出して増殖能を解析した。シグナル経路の探索、同定は、シグナル伝達経路下流に位置する分子特異的な阻害剤と Western blot 法を用いた。

【結 果】

EGF を添加した細胞では添加していない細胞と比較して、有意な運動能／増殖能の亢進が認められ、EGFR 阻害剤を添加するとこれらは有意に低下した（図 1, 2）。加えて、EGF/EGFR シグナル経路の下流に位置する Src/PI3K/Akt/mTOR が口腔粘膜上皮角化細胞の運動・増殖を調節・制御している主要な経路として関与していることが示された。

【考察および結論】

EGF/EGFR 軸とその下流の Src/PI3K/Akt/mTOR

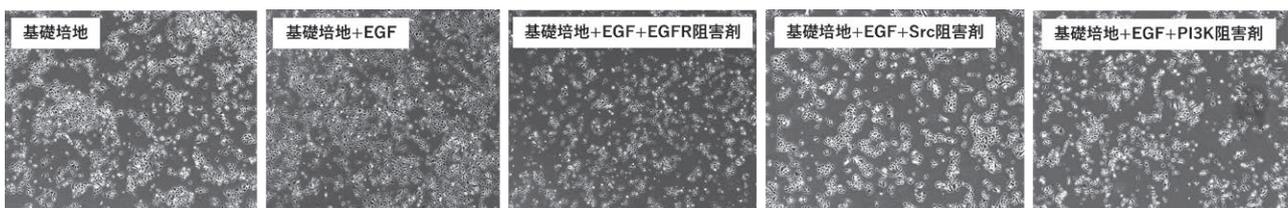


図 1 口腔粘膜上皮角化細胞の増殖パターン

EGF を添加すると基礎培地よりも細胞増殖が促進され、各種阻害剤添加すると、基礎培地よりも細胞増殖が抑制された。