

論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 松田裕子
論文題目	Effects of a Chemically Synthesized Leucine-Rich Amelogenin Peptide(csLRAP)on Chondrogenic and Osteogenic Cells
<p>(論文内容の要旨)</p> <p style="text-align: center;">【研究目的】</p> <p>アメロゲニンスプライシングアイソフォームの一つであるロイシンリッチアメロゲニンペプチド(LRAP)は、軟骨細胞および骨芽細胞に発現が認められる。これまでLRAPが骨芽細胞分化に関与することが報告されてきたが、その詳細な作用機序については不明である。また、Lysosome associated membrane protein-1 (LAMP-1)はアメロゲニンと結合することが知られている。そこで、化学合成により作成されたLRAPの軟骨前駆細胞および骨芽細胞分化に与える影響についてLAMP-1経路に着目して検討した。</p> <p style="text-align: center;">【材料および方法】</p> <p>本研究で使用した化学合成LRAPは、過去の報告によるマウスLRAPアミノ酸配列に基づきF-moc法により合成された。観察対象とした軟骨前駆細胞株ATDC5および骨芽細胞株MC3T3-E1のLAMP-1発現を確認するために、LAMP-1抗体を用いた免疫染色を行い、蛍光顕微鏡にて観察した。各細胞培養培地に、合成されたLRAP、またはLAMP-1抗体を添加し、1および4週間培養した。また1週間培養後の細胞に対しリアルタイムRT-PCR法による軟骨細胞および骨芽細胞分化マーカー遺伝子を評価した。また4週間培養後の細胞培養に、アルシアンブルー染色およびアリザリンレッド染色を施し染色強度を定量した。また、LRAPおよびLAMP-1抗体を添加した培地にて48時間培養し、細胞数測定試薬を用いて細胞増殖試験を行った。</p> <p style="text-align: center;">【結果及び考察】</p> <p>LRAP添加群は、軟骨前駆細胞のアルシアンブルー染色および骨芽細胞のアリザリンレッド染色強度がLRAP無添加群と比較して有意に上昇した。一方、LAMP-1抗体添加によりアルシアンブルー染色およびアリザリンレッド染色の強度は有意に低下した。またLRAP添加群では軟骨前駆細胞および骨芽細胞分化マーカー遺伝子の上昇がみられたが、LAMP-1抗体添加により抑制された。またLRAP添加により抑制されたATDC5細胞数およびMC3T3-E1細胞数は、LAMP-1抗体添加により回復を認めた。これらのことから化学合成されたLRAPは長期培養により軟骨細胞分化マーカーおよび骨芽細胞分化マーカー遺伝子の上昇を伴う軟骨基質および骨基質形成を促進し、その作用機序にLAMP-1が関与する可能性が示唆された。</p>	