

論文審査の結果の要旨

氏名：齋 木 あかり

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：骨芽細胞において EMMPRIN は bFGF により誘導される IL-6 分泌を抑制する

審査委員：(主査) 教授 鈴木 直 人

(副査) 教授 清水 典 佳

教授 浅野 正 岳

教授 白川 哲 夫

歯肉、セメント質、歯根膜および歯槽骨という4つの異なる組織で構成される歯周組織は、口腔内で歯を支持している。重層扁平上皮細胞、線維芽細胞、骨芽細胞および破骨細胞はそれぞれの組織において、サイトカインおよびケモカイン分泌を介して機能的に協調している。こうした細胞間のクロストークは、口腔内の恒常性維持のために極めて重要である。

電解酸性機能水 (FW) は食塩水を電解することによって生成され、高い殺菌効果があり、臨床領域で広く用いられている。熱傷モデルでは、FW が創傷治癒を促進するという報告があるが、そのメカニズムは完全には解明されていない。このモデルでは線維芽細胞が直接 FW に曝露されており、口腔内に形成された潰瘍において、歯肉線維芽細胞が口腔環境に直接暴露されるという状況に酷似している。こうしたことから、実験的に線維芽細胞への FW の効果を検討することによって、創傷治癒促進の詳細なメカニズムの解明につながる可能性がある。

そこで、本研究では子宮頸がん由来線維芽細胞 HeLa を用いて、FW (pH 2.7, 酸化還元電位 1,100 mV 以上, 遊離有効塩素濃度 30 ppm; 三浦電子) 刺激による basic fibroblast growth factor (bFGF) および extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) の分泌の変化を調べた。また、FW で刺激した HeLa 細胞の培養上清を用いて、マウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 を刺激し、interleukin-6 (IL-6) および vascular endothelial growth factor (VEGF) の分泌変化についても検討した。MC3T3-E1 細胞の bFGF および EMMPRIN に対する反応性は、recombinant human (rh) bFGF または rh EMMPRIN の存在下で MC3T3-E1 細胞を培養し、IL-6 および VEGF の分泌が促進されるか否かによって確認した。bFGF および EMMPRIN のシグナル伝達におけるクロストークの可能性については、MC3T3-E1 細胞を rh bFGF 単独および rh EMMPRIN 共存下で培養し、IL-6 の分泌量を ELISA で、また、遺伝子発現変化については real-time PCR にて検討した。また、nuclear factor-kappa B (NF- κ B) および mitogen-activated protein kinase (MEK) の関与については、NF- κ B 特異的阻害剤 L-1-4'-tosylamino-phenylethyl-chloromethyl ketone (TPCK) または MEK 阻害剤 (U0126) を用いて ELISA および Western blot 法にて検討した。

その結果以下の結論を得た。

1. FW 刺激は HeLa 細胞による bFGF および EMMPRIN 分泌を顕著に増強した。
2. MC3T3-E1 細胞において、bFGF は NF- κ B 依存的に IL-6 分泌を誘導した。
3. MC3T3-E1 細胞における bFGF 誘導性 IL-6 分泌増強は EMMPRIN によって抑制された。
4. EMMPRIN は、bFGF による NF- κ B p65 サブユニットのリン酸化を阻害した。

以上のことから、MC3T3-E1 細胞において bFGF および EMMPRIN 間のクロストークの可能性があると考えられた。

本研究では、FW により誘導される bFGF が転写因子 NF- κ B を活性化するシグナル伝達経路において、EMMPRIN がその活性化を阻害することが明らかとなった。FW によって誘導される bFGF が IL-6 産生を通じて創傷治癒を促進するのであれば、FW によって同時に誘導される EMMPRIN をどのように抑制するかが、FW の臨床応用を考えたとき、極めて重要な問題であり、創傷治癒研究や関連歯科臨床分野の発展に寄与すると考えられた。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上