

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 西 垣 勝

主論文 1 編

β -cryptoxanthin regulates bone resorption related-cytokine production in human periodontal ligament cells.

Archives of Oral Biology 58:880-886, 2013

審査結果の要旨

歯周病の発生には、細菌感染だけでなく、非細菌感染であるメカニカルストレス (MS) も深く関与している。歯周組織の破壊を抑制するためには、歯根膜の特性を解明することが肝要である。これまでに申請者らは、ヒト歯根膜 (h-PDL) 細胞が歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) に対して多くのサイトカインを産生し、歯根膜に影響を与えることを報告してきた。さらに、生理的咬合圧と同等の MS が、歯根膜に対してサイトカイン産生誘導能を有することも明らかにされている。一方 β -クリプトキサンチン (β -cry) は、近年、歯槽骨吸収を抑制すると報告されているが、この分子メカニズムは未だ明らかではない。そこで申請者らは β -cry が h-PDL 細胞における骨吸収に関連するサイトカイン産生にどのような影響を与えるか検討を加えた。

申請者らは、上顎智歯から h-PDL 細胞を採取し、初代培養後に 3 から 4 代継代したものをを用いて検討を行った。また、歯周病原菌としては、偏性嫌気性グラム陰性桿菌 *P. gingivalis* (ATCC 33277) を 5% 羊血寒天培地上で嫌気培養し、 1×10^7 CFU/ml に調整したものを使用した。まず培養 h-PDL 細胞を、 β -cry 刺激群、静水圧負荷装置による MS (1 ないし 6MPa, 60 分間) 負荷群 (MS 群)、そして *P. gingivalis* 刺激群 (細菌群) に分け、RT-PCR 法および ELISA を用いて各種サイトカインの発現を検討し対照群との比較を行った。また、倒立位相差顕微鏡を用いて、h-PDL 細胞の形態学的変化について鏡検を行い、検討を加えた。

結果として、h-PDL 細胞に β -cry 添加しても、IL (インターロイキン) -1β , IL-6, IL-8, そして TNF (腫瘍壊死因子) $-\alpha$ mRNA の発現は認められないが、*P. gingivalis* で刺激すると、これらサイトカインの mRNA の発現が誘導されることが示された。また、6MPa の MS 負荷によっても h-PDL 細胞の IL-6 や IL-8 mRNA の発現亢進が誘導されることも明らかにされた。重要なことに、こうした培養刺激系に β -cry を負荷させると、*P. gingivalis* および MS に対する h-PDL 細胞の IL-6, IL-8 産生量が有意に減少することを申請者らは見出している。他方、 β -cry は、h-PDL 細胞の形態や viability に影響を与えなかった。さらに申請者らは骨吸収に関与する RANKL と OPG 発現について検討をすすめ、培養 h-PDL 細胞に β -cry 添加しても RANKL mRNA 発現は誘導されないものの、OPG mRNA の発現が誘導されることを明らかにした。OPG 産生については ELISA による蛋白レベルでも確認された。こうした結果から、細菌感染のみならず生理的咬合圧刺激によっても h-PDL 細胞からの炎症性サイトカインの産生が誘導されること、そして β -cry の投与は、こうした炎症性サイトカインの発現を抑えることが明らかにされた。

以上が本論文の要旨であるが、歯周病のメカニズムの一端を明らかにし、また新たな炎症・骨吸収予防法の可能性が示唆された点で、医学上価値ある研究と認める。

平成 26 年 3 月 20 日

審査委員 教授 奥 田 司 ㊟

審査委員 教授 伊 藤 義 人 ㊟

審査委員 教授 中 屋 隆 明 ㊟