

論文審査の結果の要旨

氏名：伊 藤 聖

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ニコチンによる口腔上皮における低比重リポタンパク受容体およびインターロイキン 8
の発現誘導

審査委員：（主査） 教授 鈴木直人

（副査） 教授 宮崎真至

教授 小木曾文内

教授 小宮山一雄

喫煙が脂質代謝異常を惹起し、このことにより、心血管疾患や歯周病を発症させる可能性のあることが多くの報告によって示唆されている。好士らは、口腔扁平上皮癌細胞株をニコチンで刺激した後、DNA マイクロアレイ法によって遺伝子発現の変化を解析した結果、low-density lipoprotein receptor (LDLR) 遺伝子発現が約 4 倍に上昇していることを明らかにした。そこで著者は、ニコチンによる LDLR 遺伝子発現誘導のシグナル伝達経路の解明を目的とするとともに炎症性サイトカイン interleukin-8 (IL-8) の発現について検討を加えた。

実験には、口腔扁平上皮癌細胞株である Ca9-22 および HSC-3 を用いた。LDLR と nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) のサブユニットの発現は、real-time polymerase chain reaction 法によって測定した。

LDLR のタンパク発現は、免疫蛍光染色によって観察した。nAChR の関与については特異的阻害薬である α -bungarotoxin を用いた。

LDLR 遺伝子の発現調節に関しては、ルシフェラーゼアッセイにより解析した。また、転写因子 specificity protein 1 transcription factor (Sp1) の機能的な重要性については阻害剤であるミトラマイシンおよび Sp1 に対する siRNA のトランスフェクションによって検討した。

LDLR 遺伝子調節領域における Sp1 の結合性については、electrophoretic mobility shift assay およびストレプトアビジンアガロース沈降法に続くウエスタンブロットティングによって検討した。

歯肉上皮組織における LDLR タンパク発現については、喫煙者および非喫煙者から採取した歯肉上皮組織を使用し、免疫蛍光染色を行うことによって観察した。

ニコチン刺激による IL-8 発現の誘導は、培養上清を用いた enzyme-linked immunosorbent assay によって測定した。

その結果、以下の結論を得ている。

1. ニコチン刺激は、口腔扁平上皮癌細胞株の LDLR の遺伝子およびタンパク質発現を誘導した。
2. ニコチンによる LDLR 発現の上昇は、nAChR 依存性であった。
3. LDLR のプロモーターの解析から、R3 領域が LDLR 発現に重要であり、転写因子 Sp1 の結合が必須であった。
4. 喫煙者の歯肉上皮組織では、非喫煙者に比べ LDLR 発現が増加していた。
5. ニコチン刺激は、口腔扁平上皮癌細胞株の IL-8 産生を増加させた。

以上のように、本研究は、ニコチンによる脂質代謝障害と歯周病発症に LDLR および IL-8 が関与する可能性を示唆したものであり、歯周病学ならびに関連歯科医学分野に寄与するところが大きいものと考えられた。

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

平成27年3月11日