

論文審査の結果の要旨

氏名：長尾麻由

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Low-intensity pulsed ultrasound reduced lipopolysaccharide-induced IL-6 and RANKL production in osteoblasts

（低出力超音波は骨芽細胞のLPS誘導性IL-6およびRANKL発現を抑制する）

審査委員：（主査） 教授 高橋 富久

（副査） 教授 佐藤 秀一

教授 鈴木 直人

教授 前野 正夫

歯周病はプラーク中に棲息するグラム陰性菌由来のリポ多糖（LPS）によって歯肉に炎症が惹起されることに始まり、深い歯周ポケットが形成されると歯槽骨が吸収する疾患である。歯周病による骨破壊では、IL-1、TNF- α およびRANKLなどが破骨細胞の分化や活性化を促進して歯槽骨吸収を引き起す。さらに、IL-1、IL-6 および TNF- α などの炎症性サイトカインは、多くの炎症性疾患の発症や進行に深く関与しており、とくにIL-6は関節リウマチ発症の主要な炎症性サイトカインとして、骨芽細胞が産生する膜結合型リガンドであるRANKLの発現を誘導し、破骨細胞の分化を促進する。したがって、IL-6とRANKLは骨の慢性炎症性疾患の進行に関与する重要な因子と考えられている。

低出力超音波（LIPUS）は出力の低い超音波を発生させる医療用機器であり、整形外科分野において臨床応用されている。近年、炎症性ケモカインであるCXCL4およびCXCL10産生がLIPUSによって抑制されることが報告された。しかしながら、炎症性サイトカインや継続的なLIPUSの影響、また、その詳細なメカニズムについては報告されていない。そこで、本研究では骨芽細胞における継続的なLIPUSによる炎症抑制効果について細胞生物学的に検討した。

具体的には、マウス頭蓋冠由来の株化骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1細胞）を6穴プレートに播種（ 2×10^4 cells/cm²）して生着を確認後、*Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) 由来のLPS（10 μ g/ml）存在または非存在下で、最長14日間培養した。LIPUS（発振周波数1.5 MHz、超音波出力30 mW/cm²）は、培養液にプローブを直接接触させて30分/日、14日間毎日行った。培養3、7および14日目にそれぞれのサンプルを回収し、IL-6、RANKLの遺伝子発現をreal-time PCR法を用いてmRNAレベルで調べた。また、IL-6およびRANKLのタンパク発現、プロスタグランジンE₂（PGE₂）産生はELISA法を用いて調べた。さらに、LIPUSがLPSによって誘導された細胞質型ホスホリパーゼA₂（cPLA₂）とシクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）発現を抑制してPGE₂産生を抑制することで、結果的にIL-6およびRANKLの発現を抑制するのではないかと考え、LPS誘導性PGE₂の産生に関与する酵素であるCOX-2およびcPLA₂の遺伝子発現およびPGE₂産生に及ぼすLIPUSの影響をreal-time PCR法を用いてmRNAレベルで検討した。

その結果、以下の結論を得ている。

1. LIPUSはLPSにより増加したIL-6およびRANKLの発現を抑制した。
2. cPLA₂、COX-2、PGE₂のLPSにより発現が上昇した。
3. LIPUSはLPSにより増加したcPLA₂、COX-2、PGE₂の発現を抑制した。

以上のことから、LIPUSは、骨芽細胞においてLPSにより発現が誘導されるcPLA₂およびCOX-2の発現を抑制することでPGE₂産生が抑制され、最終的にIL-6およびRANKL産生が抑制されることが示唆された。つまりLIPUSは、LPSが誘因となる炎症性疾患の進行を抑制することが明らかとなった。

以上のように、本論文はLIPUSが歯周治療に有用である可能性を示唆したもので、歯周病学の発展に寄与するところが大きい。

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29年3月8日