

## 論文審査の結果の要旨

氏名：渡 邊 駿

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：培養ヒト顎関節線維芽細胞様細胞を用いた顎関節炎症病態関連因子の検索

-DNA マイクロアレイ解析および線維芽細胞様細胞と単球の共培養-

審査委員：(主査) 教授 平塚 浩一

(副査) 教授 小方 頼昌

教授 近藤 壽郎

顎関節滑膜炎は顎関節円板転位障害 (internal derangement : ID) および変形性顎関節症 (osteoarthritis of the temporomandibular joint : OA-TMJ) で高頻度に認められる。滑膜には、線維芽細胞様細胞とマクロファージ様細胞が存在し、滑膜の恒常性維持や病態形成に重要な働きをしていると考えられている。本研究では、Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) や tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) をヒト顎関節滑膜由来線維芽細胞様細胞に作用させ、網羅的な遺伝子発現解析を行った結果、発現上昇率の高かった CSF の遺伝子発現量、タンパク質産生量およびタンパク質産生経路について検討した。また、滑膜炎症病態形成におけるマクロファージ様細胞と線維芽細胞様細胞とのクロストークを解明する一環として、ヒト末梢血より分離した単球とヒト顎関節線維芽細胞様細胞の共培養を行い、両細胞のクロストークにより産生される炎症病態関連因子について調査した。

本研究から、以下の結果を得た。

- 1) DNA マイクロアレイ解析の結果、発現上昇した上位遺伝子中に CSF が認められた。
- 2) GM-CSF, G-CSF 遺伝子発現は各刺激後 8 時間まで経時的に上昇し、共刺激 > IL-1 $\beta$  > TNF- $\alpha$  の順で上昇率が高かった。一方、M-CSF 遺伝子発現は刺激後 4 時間がピークであった。
- 3) GM-CSF, G-CSF タンパク質産生は各刺激後 48 時間まで経時的に上昇し、共刺激 > IL-1 $\beta$  > TNF- $\alpha$  の順で産生量が高かった。一方、M-CSF 遺伝子発現は刺激後 24 時間以後プラトーとなった。
- 4) GM-CSF と G-CSF の遺伝子発現およびタンパク質産生は共刺激時において IL-1 $\beta$  と TNF- $\alpha$  の相乗的な効果が認められた。一方、M-CSF では共刺激時において同様の相乗的な効果は認められなかった。
- 5) IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  の濃度依存的に CSF タンパク質産生の上昇を認めた。M-CSF は無刺激時においてもタンパク質の発現が認められた。
- 6) IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  刺激滑膜線維芽細胞の GM-CSF 産生は、ERK1/2 inhibitor, p38 inhibitor, NF $\kappa$ B inhibitor により減少した。また、IL-1 $\beta$  刺激時では、JNK1/2 inhibitor による GM-CSF の産生量の減少も認められた。
- 7) IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  刺激滑膜線維芽細胞の M-CSF 産生は、ERK1/2 inhibitor, JNK1/2 inhibitor,

NFκB inhibitorにより減少した。また、IL-1β刺激時では、p38 inhibitor による M-CSF の産生量の上昇が認められた。

8) 末梢血から分離した単球は、円形状および紡錘形状を呈する二種類の細胞形態が認められた。

両細胞は免疫組織化学染色にて CD14 および CD68 陽性所見を認めた。

9) IL-1β, IL-6 および IL-8 産生は滑膜線維芽細胞や単球の単独培養と比べて、共培養では著しく産生が上昇した。

本論文は、滑膜線維芽細胞は IL-1βや TNF-α刺激により CSF を産生すること、滑膜線維芽細胞と単球の共培養により、IL-1β, IL-6 および IL-8 の産生量が増加することを明らかにした。これらの結果は、顎関節の炎症病態の亢進に CSF が関与していることを示唆するとともに、滑膜線維芽細胞への単球の接触が炎症病態の増悪に深く関与することを示唆している。よって、学位申請者は、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 2 9 年 2 月 2 3 日