

論文審査の結果の要旨

氏名：本 澤 慶 子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：低分子量および高分子量 basic fibroblast growth factor の生物活性の比較

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 川 戸 貴 行

電解酸性機能水 (acid-electrolyzed functional water : FW) は食塩水を電気分解することによって陽極側に回収される水であり, 高い殺菌効果があり, 臨床現場において消毒剤として広く使用されている。FW の生物学的機能について検討することを目的として, FW を子宮頸癌由来線維芽細胞 (HeLa 細胞) に作用させ産生されるサイトカインの変化について調べた先行研究では, basic fibroblast growth factor (bFGF) の分泌が促進されることが明らかにされている。bFGF は FGF ファミリーの 1 つで, 多様な生物活性を有する 18 kDa のタンパク質である。bFGF 遺伝子の塩基配列の分析により, 18 kDa bFGF の上流に非定型的な translation initiation codon である CTG が複数存在し, ここから翻訳される bFGF の存在が明らかとなっている。これらは分子量 34, 24, 22, 20 kDa を示し, 成熟型である 18 kDa bFGF を low molecular weight (LMW) bFGF と呼ぶのに対して high molecular weight (HMW) bFGF と称する。HMW bFGF では N 末端側に nuclear localizing signal (NLS) が存在するという点が構造上異なる。このため LMW bFGF は主に細胞質に, HMW bFGF は主に核に存在するとされている。これまでの研究から, 高分子量 bFGF を強制発現させると細胞の増殖速度が上昇するという報告はあるものの, 両者の生物活性の本質的な違いについては不明な点が多い。そこで本研究では, HMW 及び LMW bFGF の生物活性の違いについて検討した。

はじめに, HeLa 細胞を FW (pH 2.2-2.7, contains 20% Cl₂ and 80% hypochlorous acid) 刺激することによって分泌促進される bFGF の分子量を immunoprecipitation (IP) -Western blot (IP-W) 法を行い調べた。さらに, LMW bFGF と HMW bFGF の生物活性の違いを比較するため, LMW bFGF でこれまで報告のあった血管内皮細胞増殖因子 (vascular endothelial growth factor : VEGF) 誘導能について比較検討した。LMW bFGF と HMW bFGF の recombinant bFGF の作製にあたり, FW 刺激によって分泌が確認された全ての bFGF isoform のうち, 成熟型である 18 kDa の LMW isoform と 34 kDa の HMW isoform に着目した。本研究において新たに構築した 18 kDa および 34 kDa 発現ベクターを用いて *in vitro* transcription/translation を行い 18 kDa および 34 kDa の recombinant bFGF の作製をした。それぞれの bFGF isoform の定量は ELISA にて行い, 分子量の確認は IP-W により行った。さらに VEGF 濃度の定量は, ELISA により検討した。

その結果以下の結論を得た。

1. HeLa 細胞への FW 刺激は全ての bFGF isoform の分泌を促進させた。
2. HMW bFGF である 34kDa は LMW bFGF と同様に VEGF の誘導をした。

以上のことから, NLS が存在するにもかかわらず HMW bFGF は LMW bFGF と同様に VEGF を誘導する作用があり, それによって創傷治癒に貢献している可能性が示唆された。

本研究は FW の臨床応用を検討するにあたり極めて有意義な結果であり, 歯科臨床分野とくに創傷治癒に関連した研究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

平成 30 年 3 月 7 日