

## 論文審査の結果の要旨

氏名：加藤 駿一郎

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名： Glucose transporter 4 mediates LPS-induced IL-6 and IL-1 $\alpha$  expression under the high glucose condition on osteoblasts

（高濃度グルコースは Glucose transporter 4 を介して骨芽細胞における LPS 誘導性の IL-6 と IL-1 $\alpha$  発現を促進する）

審査委員：(主査) 教授 川戸 貴行

(副査) 教授 植田 耕一郎

教授 佐藤 秀一

教授 鈴木 直人

歯周病は、歯肉の炎症と歯槽骨の吸収を誘引するグラム陰性菌由来のリポ多糖（LPS）によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、咀嚼機能を低下させる歯の喪失の主要な原因となる。糖尿病もまた高い有病率を示す慢性の疾患であり、インスリンの作用が不足して糖代謝異常を引き起こす。糖尿病によって生じる慢性的な高血糖状態は、さまざまな合併症を生じることが問題となっており、糖尿病と歯周病の関連性についても注目されている。しかし、細胞生物学的に糖尿病と歯周病の関係性を裏付ける報告は少ないのが現状である。

LPS は、骨芽細胞において受容体を介して NF- $\kappa$ B を活性化し、IL-1 $\alpha$ 、IL-6、RANKL などの炎症性サイトカイン発現を誘導することで破骨細胞を分化および活性化する。つまり、骨芽細胞が産生する炎症性サイトカインは、慢性の炎症性骨疾患の進行に関与する重要な因子と考えられる。一方、骨芽細胞が産生する骨タンパク質である osteocalcin (OCN) は、糖質代謝にも関連することが示唆されている。そこで、本研究では、高濃度グルコース刺激が骨芽細胞の LPS 誘導性の炎症性サイトカイン発現に及ぼす影響を、細胞生物学的に検討した。また、細胞内へのグルコース取り込みに関与する glucose transporter (GLUT) 4 に対する阻害剤が、高濃度グルコース刺激下における LPS 誘導性の炎症性サイトカインならびに OCN 発現変化に及ぼす影響も合わせて検討した。

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、生着を確認した後、血清および抗生物質を含む細胞培養用培地で 14 日間培養した。細胞を刺激する条件は、培地に 100 ng/ml LPS を添加（LPS 群）、100 ng/ml LPS と 22 mM グルコースを添加（LPS+グルコース群）、および LPS とグルコースを非添加（コントロール群）とした。また、培地に添加する GLUT4 阻害剤 WZB117 の濃度は 1.0  $\mu$ M とした。培養 7 日目と 14 日目に細胞と細胞培養上清を回収し、real-time PCR 法にて mRNA 発現を、ELISA 法でタンパク発現を調べた。

その結果、以下の知見を得た。

1. IL-6 と IL-1 $\alpha$  の mRNA 発現は、コントロール群と比較して LPS 群または LPS+グルコース群で有意に上昇した。
2. RANKL の mRNA 発現は、細胞を刺激した条件間で有意差は認められなかった。
3. IL-6 のタンパク発現は、コントロール群と LPS 群に比較して LPS+グルコース群で有意に上昇した。
4. LPS+グルコース群における IL-6 と IL-1 $\alpha$  の mRNA 発現増加は、WZB117 によって抑制された。
5. OCN の mRNA 発現は、コントロール群と比較して LPS+グルコース群で有意に減少したが、WZB117 の影響は認められなかった。

これらの結果から、高血糖状態は、LPS 刺激を受けた骨芽細胞の炎症性サイトカイン産生を誘導し、炎症性骨吸収を促進する可能性が考えられた。

以上のように、本研究は、糖尿病と歯周病の細胞生物学的な関連性の一端を明らかにしたもので、歯科基礎医学および歯科臨床の発展に寄与するところが大きく考えられる。

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

令和 2 年 3 月 11 日