

論文審査の結果の要旨

氏名：鈴木麻由

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ヒト顎関節滑膜細胞の MCP および GRO 産生に対する 30 kDa フィブロネクチンフラグメントの影響

審査委員：(主査) 教授 平塚浩一
(副査) 教授 吉垣純子
教授 近藤壽郎

顎関節円板転位障害 (internal derangement: ID) や変形性顎関節症 (osteoarthritis of the temporomandibular joint: OA-TMJ) の滑膜では炎症所見が認められる。また、滑膜に存在する顎関節滑膜細胞 (滑膜細胞) は滑液や細胞外基質の産生・分泌を行うが、炎症状態における細胞外基質分解産物の細胞に与える影響に関しては不明な点が多い。

近年、細胞外基質の分解産物は、非感染性の炎症における内在性因子として注目されている。フィブロネクチン (fibronectin: FN) は、細胞外基質の高分子会合体を構成する糖タンパク質で、コラーゲン/ゼラチン、フィブリン、ヘパリンおよび細胞結合ドメインを有している。FN の分解は、関節リウマチなど多くの関節炎において関節破壊を導く中心的事象である。FN は細胞外基質分解酵素によって、30 kDa, 45 kDa, 120 kDa のフィブロネクチンフラグメント (fibronectin fragment: FN-F) に分解されること、これら分解産物が内在性の起炎物質となる可能性が報告されている。変形性関節症 (osteoarthritis: OA) 患者の滑液中からは高濃度の FN-F が検出されており、FN-F が OA や病態形成に関与すると報告されている。これらの FN-Fのうち、30 kDa FN-F が最も軟骨細胞のコラゲナーゼ産生やマクロファージの炎症性サイトカイン産生を上昇させたとの報告がある。

本研究では、細胞外基質分解産物が滑膜炎の増悪に関与する可能性があるのかを検討することを目的として、30 kDa FN-F を患者由来のヒト顎関節滑膜細胞 (以下 滑膜細胞) に作用させ、モノサイト/マクロファージ遊走作用のある Monocyte chemotactic protein (以下 MCP) -1, -2, -3, および、好中球活性化や血管新生作用のある Growth related oncogene (以下 GRO) α -, β -, γ の遺伝子発現とタンパク質産生についての経時的な変化を探った。さらに、滑膜細胞における 30 kDa FN-F のシグナル伝達経路の解明を目的として阻害薬を用いた検討を行った。すべての結果は ANOVA 解析後、Student-Newman-Keuls (SNK) 法を用いて群間比較を行った。

本研究により以下の結果を得ている。

- 1) 滑膜細胞の MCP-1 および MCP-3 遺伝子発現は、30 kDa FN-F 作用後 6 時間で、発現上昇を認めた。また、MCP-2 遺伝子発現は、30 kDa FN-F 作用後 24 時間で、発現上昇を認めた。
- 2) 滑膜細胞の、GRO- α 遺伝子発現は、30 kDa FN-F 作用後 6, 12 および 24 時間で、発現上昇を認めた。GRO- β 遺伝子発現は、30 kDa FN-F 作用後 12 および 24 時間で、発現上昇を認めた。また、GRO- γ 遺伝子発現は、30 kDa FN-F 作用後 24 時間で、発現上昇を認めた。
- 3) 滑膜細胞培養上清中の MCP-1 および GRO- α タンパク質量は、30 kDa FN-F 作用後 24 および 48 時間で、上昇を認めた。
- 4) 30 kDa FN-F 刺激によって上昇した MCP-1 タンパク質産生は、JNK1/2 inhibitor (SP600125) および NF κ B inhibitor (APDC) によって減少を認めた。一方、ERK1/2 inhibitor (PD98059) では産生量の上昇を認めた。特に NF κ B inhibitor によって MCP-1 は 98.0% 阻害された。NF κ B 経路についてさらに検討を行った。

たところ, MCP-1 タンパク質産生は, PI3K inhibitor (LY294002), TAK1 inhibitor ((5z)-7-oxozeaenol) および IKK inhibitor (PS-1145) によって減少を認めた。 IRAK-1/4 inhibitor では, 有意差はないものの減少傾向が認められた。

- 5) 30 kDa FN-F 刺激によって上昇した GRO- α タンパク質産生は, JNK1/2 inhibitor, p38 inhibitor (SB203580) および NF κ B inhibitor による減少を認めた。 一方, ERK1/2 inhibitor では産生量の上昇を認めた。 特に NF κ B inhibitor によって GRO- α は 99.8%阻害された。 NF κ B 経路についてさらに検討を行ったところ, GRO- α 産生は IRAK-1/4 inhibitor, PI3K inhibitor, TAK1 inhibitor および IKK inhibitor によって減少を認めた。

本論文は, 顎関節滑膜炎などにより分解された FN-F により, 滑膜線維芽細胞は, MCP-1, -2, -3 および GRO- α , - β , - γ の遺伝子発現および MCP-1 および GRO- α タンパク質産生量を上昇させることを明らかにした。 また, 顎関節滑膜細胞において 30 kDa FN-F は, Toll Like Receptor を介して NF κ B を活性化し, MCP-1 および GRO- α を産生することを示唆した。 この結果は, 分子量 30 kDa FN-F は起炎物質として顎関節の炎症病態形成や疼痛に関与する可能性を示した。

本研究の成果は, 今後の顎関節疾患の病態形成機序の解明に貢献するものであり, 今後の一層の発展が望めるものである。 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1月23日