

論文審査の結果の要旨

氏名：柴田 知佳

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：炎症性サイトカインが脂肪細胞の血管新生因子とタンパク分解関連因子の発現に及ぼす影響

審査委員：（主査） 教授 磯川 桂太郎

（副査） 教授 川戸 貴行

教授 鈴木 直人

教授 米原 啓之

脂肪組織の血管網と細胞外基質の継続的なリモデリングは、酸素と栄養素の適切な供給と十分な空隙を脂肪細胞にもたらす。一方、血管形成の相対的な減少と細胞外基質タンパクの代謝回転の遅延は、脂肪組織の代謝能力を低下させ、動脈硬化性疾患のリスクの増加を招く。脂肪細胞は、vascular endothelial cell growth factor (VEGF) A や hepatocyte growth factor (HGF) などの血管新生因子を産生し、脂肪組織の血管形成に関与する。また、脂肪細胞は I 型コラーゲンをはじめとする細胞外基質タンパクとともに、タンパク分解酵素 matrix metalloproteinases (MMPs) とその内因性阻害因子 tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs) を発現し、細胞外基質のリモデリングを調節している。歯周病やリウマチなどの炎症性疾患が動脈硬化性疾患の発症と関連し、また、これらの炎症性疾患は、血中の interleukin (IL)-6 と tumor necrosis factor (TNF)- α のレベルを高めることが知られている。そこで、申請者は、脂肪細胞を IL-6 または TNF- α で刺激し、血管新生因子、I 型コラーゲン、MMPs および TIMPs の発現を調べるとともに、脂肪細胞由来の培養上清を含む conditioned medium がヒト臍静脈内皮細胞 (HUVEC) による管様構造形成に及ぼす影響について検討した。

本研究では、脂肪前駆細胞である 3T3-L1 の分化誘導初期 (4~5 日目) と後期 (14~15 日目) にそれぞれ認められる未成熟脂肪細胞と成熟脂肪細胞を、0.01 ng/mL の IL-6 または TNF- α で 12 時間刺激した。血管新生因子である VEGFA, HGF, angiopoietin (ANG)-1 および ANG-2, ならびに I 型コラーゲン, MMP-13, MMP-14, TIMP-1 および TIMP-2 の遺伝子発現を real-time PCR 法で調べた。また、脂肪細胞の培養上清中の血管新生因子のタンパクを ELISA 法で調べた。さらに、脂肪細胞の培養上清を含む conditioned medium で HUVEC を培養後、管様構造の形成を顕微鏡で観察した。

その結果、以下の結果および結論を得ている。

1. IL-6 または TNF- α の刺激によって未成熟脂肪細胞の VEGFA, HGF および ANG-2 の発現は増加し、ANG-1 の発現は減少した。
2. IL-6 または TNF- α の刺激によって成熟脂肪細胞の VEGFA と HGF の発現は減少したが、ANG-1 と ANG-2 の発現に変化は認められなかった。
3. HUVEC の管様構造の形成は、IL-6 または TNF- α で刺激した未成熟脂肪細胞の培養上清を含む conditioned medium で促進したが、成熟脂肪細胞の培養上清を含む conditioned medium では刺激の影響は認められなかった。
4. IL-6 または TNF- α の刺激によって未成熟脂肪細胞の MMP-14 の発現は増加する一方で TIMP-1 と TIMP-2 の発現は減少し、I 型コラーゲンと MMP-13 の発現に刺激の影響は認められなかった。
5. IL-6 または TNF- α の刺激によって成熟脂肪細胞の MMP-13 の発現は減少し、I 型コラーゲン、MMP-14, TIMP-1 および TIMP-2 の発現に刺激の影響は認められなかった。

以上のように、本研究は、歯周病で増加が認められる炎症性サイトカインが、脂肪細胞を介した血管新生と細胞外基質タンパクの分解に影響する機序の一端を明らかにしたものであり、口腔衛生学における研究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

令和 3 年 3 月 10 日