

論文審査の結果の要旨

氏名：根岸 浩二

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Down 症候群由来歯肉線維芽細胞にみられる IL-4 の炎症抑制反応阻害と転写因子の関係性

審査委員：(主 査) 教授 平塚 浩一
(副 査) 教授 小方 頼昌
教授 野本 たかと

Down 症候群 (DS) の歯周炎は早期発症で急速に進行しやすいことが知られ、その原因の一つに免疫応答異常が挙げられる。免疫応答の中心である T 細胞の分化を担う Interleukin (IL) -4 は、破骨細胞の生成を減少させるとの報告や、歯周組織の局所的な IL-4 の欠如は組織破壊を誘発させるとの報告がある。さらに、IL-4 は IL-1 β によって発現誘導される炎症関連物質を抑制することから抗炎症作用があり、炎症の収束において重要な働きをすることが明らかにされている。現在までに、DS の歯周炎に関して、炎症惹起や進行を解明する報告はあるものの、炎症抑制因子に着目した報告はない。そこで今回本研究は、炎症抑制因子としての IL-4 の役割に着目し、DS における炎症応答への IL-4 の関与を検証した。

健常者由来歯肉線維芽細胞 (NGF) と Down 症候群由来歯肉線維芽細胞 (DGF) にリコンビナント rIL-1 β および rIL-4 を添加し、細胞応答を確認した。NGF および DGF に、rIL-1 β を単独添加した rIL-1 β 群、rIL-4 を単独添加した rIL-4 群、rIL-1 β と rIL-4 を同時に添加した rIL-1 β /rIL-4 群、そして H₂O を添加したコントロール群を設け、IL-6 および IL-8 を炎症の指標とし、各群におけるこれらのタンパク産生量および遺伝子発現を比較した。さらに、IL-1 β と IL-4 のシグナル伝達において重要な役割を担う転写因子である、nuclear factor (NF)- κ B p65, signal transducer and activator of transcription (STAT) 6 ならびに STAT3 のリン酸化への IL-4 の影響について検証した。タンパク産生量への IL-4 の影響については、NGF では rIL-1 β 群に比べて rIL-1 β /IL-4 群の IL-6 産生量は 6 時間、24 時間ともに有意に減少したが、DGF では有意差を認めなかった。NGF における rIL-1 β /IL-4 群の IL-8 産生量は、rIL-1 β 群に比べて有意に減少した。一方、DGF においては rIL-1 β /IL-4 群の方が IL-1 β 群よりも有意に増加した。遺伝子発現への影響については、NGF では rIL-1 β 群に比べて rIL-1 β /IL-4 群の方がともに有意に低下したが、DGF では有意に上昇した。これらの結果から、NGF では IL-4 は炎症抑制効果を示すと思われたが、DGF では抑制効果を示さない可能性があると考えられた。転写因子のリン酸化への影響については、phospho-NF- κ B p65 は、NGF、DGF ともに rIL-1 β 群と rIL-1 β /IL-4 群で検出されたが、両細胞とも群間に有意差を認めなかった。従って、NF- κ B p65 は IL-4 の抗炎症作用には関与していない可能性が考えられた。phospho-STAT6 が NGF および DGF で IL-4 添加によって検出されたことから、両細胞ともに STAT6 活性化によるシグナル伝達が引き起こされたと考えられる。しかしながら、NGF に比べて DGF の phospho-STAT6 の検出は低かった。さらに、NGF では 30 分でも持続して高く phospho-STAT6 が検出されたのに対し、DGF では極めて低くなった。これらのことから、DGF において IL-4 添加により IL-6 および IL-8 のタンパク産生量ならびに遺伝子発現量が減少しなかったのは、STAT6 のリン酸化が弱く、持続性ではないことが原因の一つであると考えられる。phospho-STAT3 について、DGF の STAT3 のリン酸化が一過性であったことから、DGF においては、STAT3 の活性を介した IL-4 による炎症抑制効果が得られなかったと考えられた。

DGF の方が NGF に比べて IL-6 および IL-8 のタンパク産生量や遺伝子発現が高いのにもかかわらず、NF- κ B p65 のリン酸化が弱いこと、また IL-4 によって IL-6 および IL-8 が増大したことについて、今後時間軸を含めた、NF- κ B p65 と STAT6 の関係性など、細胞内のクロストークを追求する必要があると思われた。

本研究は、Down 症候群に認められる重篤な歯周炎に対して IL-4 による炎症抑制効果が認められないこ

とを示唆するとともに、IL-4 のシグナル伝達系の異常を明らかにした新たなる知見を得たものであり、今後の Down 症候群にみられる慢性炎症の進行および抑制の研究に発展をもたらす可能性が大きい。
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2月25日