

## 論文審査の結果の要旨

氏名：古谷 夏子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ヒト歯髓培養細胞における fractalkine/C-X3-C motif chemokine ligand-1 および CX3CR1 の発現と炎症、硬組織形成に対する影響

審査委員：(主査) 教授 小方 頼昌

(副査) 教授 福本 雅彦

教授 吉垣 純子

歯髓は象牙質に囲まれ、周囲組織との交通は根尖孔のみという閉鎖的な空間にあり、歯髓炎が惹起されると治癒機転が働きにくく、不可逆性の経過をたどることが多い。失活歯の予後は生活歯に比べて統計的に短いことも明らかになっており、歯髓保存療法の研究が進められている。現在では水酸化カルシウム製剤や Mineral Trioxide Aggregate (MTA) といったカルシウムを主体とした直接覆髓材が臨床で用いられている。これらは被蓋硬組織を形成して露髓部における治癒促進に働く一方で、露髓面直下に壊死層を形成し、歯髓の活性を低下させることや、炎症の起きた歯髓に対する成功率は低いという問題点がある。一方、従来の覆髓法とは異なるサイトカイン療法ともいべき覆髓法が近年注目されている。サイトカインを直接投与することによって細胞増殖、硬組織形成細胞を活性化し、組織再生を積極的に促進していく方法である。現在、歯周組織再生療法においては歯周組織の血管新生、細胞増殖を期待する目的で遺伝子組み換え塩基性線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor-2: FGF-2) が医薬品として承認され、臨床の場で利用されている。マウスの歯髓組織においては MTA に bone morphogenetic protein (BMP) を含有させると、被蓋硬組織の形成を含めた露髓部の創傷治癒が促進されることが報告されており、成長因子を応用して自己修復能の活性化を促すサイトカインは新規覆髓剤に有用である可能性を示している。

Fractalkine/ C-X3-C motif chemokine (CX3C) ligand 1 は主に血管内皮細胞上に発現するケモカインであり、そのレセプターである CX3CR1 と結合することで炎症性細胞を動員することが知られている。近年では、炎症だけでなく、皮膚創傷治癒や硬組織形成マーカーを発現することが報告されている。これらの報告から、歯髓組織においても fractalkine-CX3CR1 は炎症時だけでなく、炎症後の治癒にも関与している可能性がある。

本研究では、IL-1 $\beta$  または Lipopolysaccharide (LPS) の添加により fractalkine mRNA およびタンパク質の発現上昇が認められた。また、齶蝕を有する抜去歯を用いた歯髓組織の免疫組織染色において、齶窩直下に炎症性細胞浸潤を認め、炎症が惹起された部位に現局して抗 fractalkine 抗体、抗 CX3CR1 抗体陽性の歯髓線維芽細胞を認めた。さらに、ヒト歯髓培養細胞において 5.0 nM, 10.0 nM fractalkine の添加で cyclooxygenase-2 (COX-2) タンパク質発現量の増加、10.0 nM fractalkine の添加で COX-2 タンパク質発現量、Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 産生量の増加を認めた。また、ヒト歯髓培養細胞において 1.0 nM fractalkine の添加により石灰化結節の形成、BMP-2, osterix mRNA 発現の上昇、dentin sialophosphoprotein (DSPP) タンパク質発現量の上昇を認めた。DSPP タンパク質への効果は、CX3CR1 の阻害薬である AZD8797 により抑制された。

以上の結果から、ヒト歯髓組織において fractalkine/CX3CR1 の発現が認められ、高濃度の fractalkine (5.0 nM, 10.0 nM) は、COX-2 および PGE<sub>2</sub> 産生を促進することで歯髓炎の進行に関与し、低濃

度(1.0 nM)では, BMP-2, osterix mRNA, DSPP タンパク質の発現を増加させることにより歯髄の硬組織形成に関与している可能性が示唆された。これらの結果は, 歯髄における炎症の進展と, 硬組織形成能の一部を明らかにし, 新たな覆髄剤の開発に貢献するところは大である。

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

年 月 日