

ふりがな氏名	らん らん 蘭 嵐
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第1656号
学位授与の日付	令和5年6月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項に該当
学位論文題目	Surface Pre-reacted Glass-ionomer (S-PRG) Filler Eluate Suppresses MMP-1 Secretion by TNF- $\alpha$ -stimulated Human Gingival Fibroblasts (S-PRG フィラー溶出液は TNF- $\alpha$ 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 分泌を抑制する)
学位論文掲載誌	Nano Biomedicine 第14巻 第2号 令和4年12月
論文調査委員	主査 合田 征司 教授 副査 沖永 敏則 教授 副査 橋本 典也 教授

### 論文内容要旨

歯周炎は、歯の支持組織である歯周組織の劣化と破壊を特徴とする慢性炎症性疾患であり、重度の歯周炎は歯の喪失の主な原因である。TNF- $\alpha$  は組織損傷において主要な役割を果たす炎症性サイトカインの1つで線維芽細胞とマクロファージによって産生され、骨吸収の誘導などの多くの作用を引き起こす。TNF- $\alpha$  はマトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) の放出を促進することで歯肉の細胞外マトリックス (ECM) を破壊し急速な疾患の進行を誘発する。

S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6種類のイオン (Na, F, Al, B, Sr, Si) 徐放能を有する齶蝕抑制効果の高い材料として知られている。S-PRG フィラー溶出液は、S-PRG フィラーと  $\alpha$ -MEM を懸濁させた後に上清をろ過して作製する。S-PRG フィラー溶出液には、S-PRG フィラーから溶け出した6種類のイオン (F, Na, Al, B, Sr および Si) が存在する。

本研究では、炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  で刺激したヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) における MMP-1 分泌に対する S-PRG フィラー溶出液の影響を検討した。

HGF を 12 well plate に  $1.0 \times 10^5$  cells / well で播種し、各種濃度の S-PRG フィラー溶出液 (0.1, 0.5, 1.0 %) および 10 ng / mL の TNF- $\alpha$  で 24 時間刺激した。刺激後に上清を濃縮してサンプルを作成し、MMP-1 をウエスタンブロッティングにて確認した。その結果、TNF- $\alpha$  刺激により増加した MMP-1 の分泌は TNF- $\alpha$  と S-PRG フィラー溶出液の共刺激により抑制された。次に、S-PRG フィラー溶出液 (0.1%) で HGF を 30 分間前処理してから TNF- $\alpha$  (10 ng / mL) にて刺激し、各種シグナル伝達物質 (Akt, NF- $\kappa$ B p65, p38, JNK) におけるリン酸化のタイムコースをウエスタンブロッティングにより検討した。その結果、S-PRG フィラー溶出液は TNF- $\alpha$  刺激による Akt, NF- $\kappa$ B p65, p38 のリン酸化レベルには影響を与えなかった。JNK のリン酸化は、TNF- $\alpha$  刺激の 5 分後から確認され以後 60 分後まで観察された。JNK リン酸化のピークは TNF- $\alpha$  刺激の 15 分後に確認され、その後リン酸化は時間とともに減少した。TNF- $\alpha$  および S-PRG フィラー溶出液との共刺激は、TNF- $\alpha$  刺激と比較して JNK のリン酸化

レベルを低下させた。

以上の結果から、複数のイオンを含む S-PRG 溶出液が TNF- $\alpha$  刺激 HGF からの MMP-1 の分泌を抑制する可能性が示唆された。また、その作用のメカニズムには JNK のリン酸化が関与している可能性が示唆された。

### 論文審査結果要旨

本研究は、炎症性サイトカイン TNF- $\alpha$  や S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラー溶出液を用いて、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を刺激し、細胞外マトリックス分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs) -1 の産生とその細胞内シグナル伝達経路について検討したものである。

その結果、TNF- $\alpha$  刺激により増加した MMP-1 の分泌は TNF- $\alpha$  と S-PRG フィラー溶出液の共刺激により抑制されたことを確認した。また、ウエスタンブロッティングによる細胞内シグナル伝達経路についての検討においては、JNK リン酸化のピークは TNF- $\alpha$  刺激の 15 分後に確認され、その後リン酸化は時間とともに減少し、TNF- $\alpha$  および S-PRG フィラー溶出液との共刺激は、TNF- $\alpha$  刺激と比較して JNK のリン酸化レベルを低下させるとの結果を得た。

以上の実験結果から、複数のイオンを含む S-PRG 溶出液が TNF- $\alpha$  刺激 HGF からの MMP-1 の分泌を抑制する可能性を示したこと、またその作用のメカニズムには JNK のリン酸化が関与している可能性を示唆した点において本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。

なお、外国語 1 か国語 (英語) について試問を行った結果、合格と認定した。