

ふりがな氏名	かせいけん 柯 正建
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第1661号
学位授与の日付	令和5年12月27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	γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic Acid (iE-DAP) Regulates the Production of Matrix Metalloproteinase-1 by Human Dental Pulp Fibroblast-like Cells (γ -D-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) は、 ヒト歯髄線維芽細胞様細胞におけるマトリックスメタロプロ テイナーゼ-1 産生を調節する)
学位論文掲載誌	Nano Biomedicine 第15巻 第1号 令和5年6月
論文調査委員	主査 合田 征司 教授 副査 三宅 達郎 教授 副査 柏木 宏介 教授

論文内容要旨

自然免疫系は体の防御の最前線であり、多くの炎症性疾患の病因において重要な役割を果たしている。パターン認識受容体 (PRR) が病原体関連分子パターン (PAMPs) を認識することで防御反応が惹起される。ヒト歯髄線維芽細胞様細胞 (hDPF) で構成的に発現されるヌクレオチド結合オリゴマー化ドメイン 1 (NOD1) は PRR の 1 種で、PAMPs の 1 種である γ -D-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) を感知することにより、細菌からの歯髄免疫応答を引き起こす。

マトリックスメタロプロテイナーゼ 1 (MMP-1) は、細胞外マトリックス成分である I 型コラーゲンを分解する重要な酵素であり、歯髄組織の破壊に関与している。

本研究では、hDPF の MMP-1 産生における iE-DAP の影響について検討した。

hDPF に 10 μ g/mL iE-DAP 刺激を加えて 24 時間刺激した。刺激後、フローサイトメーターによる死細胞の測定を行うことで細胞毒性の検討をおこなった。また、同様の刺激を加えた後に細胞増殖試薬 WST-8 と反応させ細胞増殖能の検討もおこなった。その結果、iE-DAP は、hDPF に対して細胞毒性がなく、増殖にも影響を与えないことを確認した。次に、hDPF を 12 well plate に 1.0×10^5 cells / well で播種し、各種濃度の iE-DAP 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 iE-DAP 刺激により、hDPF の MMP-1 産生は濃度依存的に増強し、そのピークは 10 μ g/mL であることを確認した。

MMP-1 産生実験と同様に hDPF を播種し、10 μ g/mL iE-DAP にて 10 分間刺激し、サンプル作成後 ERK1/2 のリン酸化をウエスタンブロッティングにより検討した。その結果 iE-DAP 刺激は、無刺激のコントロールと比較して ERK1/2 のリン酸化レベルを増強することを確認した。

以上の結果から、iE-DAP 刺激が hDPF からの MMP-1 産生を増強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 ERK1/2 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

自然免疫系では、パターン認識受容体 (PRR) が病原体関連分子パターン (PAMPs) を認識することで防御反応が惹起される。ヒト歯髄線維芽細胞様細胞 (hDPF) で構成的に発現されるヌクレオチド結合オリゴマー化ドメイン 1 (NOD1) は PRR の 1 種で、PAMPs の 1 種である γ -D-グルタミル-メソ-ジアミノピメリン酸 (iE-DAP) を感知することにより、バクテリアからの歯髄免疫応答を引き起こすことが知られている。

本研究は、hDPF のマトリックスメタロプロテイナーゼ 1 (MMP-1) 産生における iE-DAP の影響について検討したものである。

その結果 iE-DAP 刺激により、hDPF の MMP-1 産生は濃度依存的に増強することを確認した。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、iE-DAP 刺激が無刺激のコントロールと比較して ERK1/2 のリン酸化レベルを増強させるとの結果を得た。

以上の結果から、iE-DAP 刺激が hDPF からの MMP-1 産生を増強する可能性を示唆したこと、またその作用のメカニズムには ERK1/2 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。