

ふりがな 氏名	もりさき あゆむ 森崎 歩
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第1664号
学位授与の日付	令和6年3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	Effects of Platelet-derived Growth Factor-bb on Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Production in Human Gingival-derived Fibroblasts (ヒト歯肉由来線維芽細胞のTIMP-1産生に対するPDGF-bbの影響)
学位論文掲載誌	Nano Biomedicine 第15巻 第2号 令和5年12月
論文調査委員	主査 合田 征司 教授 副査 馬場 俊輔 教授 副査 上村 守 教授

論文内容要旨

マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMPs）は、歯周組織のリモデリングにおいて重要な役割を担うことが知られている。MMPsは、リモデリング中に細胞外マトリックスを分解するが、その活性は組織メタロプロテイナーゼ阻害剤（TIMPs）によって制御されている。血小板由来成長因子（PDGF）は、歯周組織で産生され創傷治癒と組織修復における重要な調節因子として認識されている。MAPKカスケードは、細胞増殖、成長、分化など多種多様な細胞プロセスを制御する複雑なシグナル伝達ネットワークを形成している。異なるMAPK間でシグナリングクロストークが発生するという概念は現在広く認識されている。MAPKファミリーのメンバーであるERK1/2は、TIMP-1の産生に関与する細胞内情報伝達物質キナーゼである。

本研究では、結合組織リモデリングのメカニズムを解明するために、ヒト歯肉線維芽細胞（HGFs）におけるPDGF-bb刺激TIMP-1産生とERK1/2リン酸化の関係を調べた。また、ERK1/2とp38のシグナリングクロストークについても検討した。

HGFsを12well plateに 1.0×10^5 cells / wellで播種し、各種濃度のPDGF-bb（0, 1, 10, 20, 50, および100 ng/ml）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、TIMP-1をウエスタンブロッティングにて確認した。その結果、PDGF-bb濃度依存的にTIMP-1産生は増加した。HGFsをp38 α/β 阻害剤SB239063にて1時間前処理したのちにPDGF-bb（100 ng/ml）で24時間刺激した。上清を濃縮してサンプルを作成しTIMP-1の産生を確認した。PDGF-bbによって誘導されたTIMP-1の増加は、p38 α/β 阻害剤SB239063によってさらに増強した。HGFにp38 α に対するsmall interferingRNA（siRNA）をLipofectamine RNAiMAX Transfection Reagentを用いトランスフェクシ

オンし、p38 α をノックダウンした。PDGF-bb 刺激を 24 時間加え、サンプルを回収し TIMP-1 の産生を確認した。p38 α のノックダウンにより PDGF-bb によって誘導された TIMP-1 の増加はさらに増強した。p38 阻害剤 SB203580 にて 1 時間前処理したのちに PDGF-bb にて 30 分間刺激した。ERK1/2 のリン酸化をウエスタンブロッティングにて確認した。PDGF-bb 刺激により ERK1/2 のリン酸化が確認された。SB203580 処理により ERK1/2 のリン酸化は抑制された。

以上の結果から、PDGF-bb は HGFs における ERK1/2 活性化シグナル伝達経路を介して TIMP-1 の産生を誘導することが示唆された。また、ERK1/2 活性化には p38 α とのシグナリングクロストークが関与しており ERK1/2 の活性化が p38 α によって協調的に制御されていることが示唆された。

論文審査結果要旨

本論文は、結合組織リモデリングのメカニズムを解明するために、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) において血小板由来成長因子-bb (PDGF-bb) 刺激による組織メタロプロテイナーゼ阻害剤-1 (TIMP-1) 産生と ERK1/2 リン酸化との関係を調査している。また、ERK1/2 と p38 のシグナリングクロストークについても検討している。

その結果、HGF において PDGF-bb 濃度依存的に TIMP-1 産生が増加すること、PDGF-bb によって誘導された TIMP-1 の増加は、p38 α/β 阻害剤 SB239063 よってさらに増強することを発見した。また、p38 α をノックダウンした HGF では、PDGF-bb によって誘導された TIMP-1 の増加はさらに増強することを見いだした。さらに HGF において PDGF-bb 刺激により ERK1/2 のリン酸化が引き起こされるが、SB203580 処理により ERK1/2 のリン酸化は抑制させることを明らかにした。

以上、本論文は HGFs において PDGF-bb が ERK1/2 活性化シグナル伝達経路を介して TIMP-1 の産生を誘導すること。そして、ERK1/2 活性化には p38 α とのシグナリングクロストークが関与しており ERK1/2 の活性化が p38 α によって協調的に制御されていることを解明した。これらの新知見を得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。