

ふりがな 氏名	ていほう 鄭 峰
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	乙 第 1665 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 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ on Interleukin-8 Production in Human Gingival Epithelial Cells (ヒト歯肉上皮細胞の Interleukin-8 産生に対する tumor necrosis factor - $\alpha$ の影響)
学位論文掲載誌	Journal of Oral Tissue Engineering 第 21 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 本田 義知 教授 副査 竹信 俊彦 教授

#### 論文内容要旨

腫瘍壊死因子 (TNF) - $\alpha$  は、初期の炎症反応として産生される炎症性サイトカインの一つであり、炎症進行の成立に関与していると考えられている。インターロイキン-8 (IL-8) も炎症性サイトカインの一つであり好中球を炎症局所へ遊走させる作用を持っている。IL-8 は細菌感染初期の生体防御に関与していると考えられており、炎症の発症と発展に重要である。MAPK ファミリーの ERK1/2 と p38 は IL-8 産生に関わるキナーゼとして知られている。

本研究ではヒト歯肉上皮における炎症の発症と発展機序を解明するためにヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 を用いて TNF- $\alpha$  刺激による IL-8 産生について検討した。また、IL-8 産生における細胞内シグナル伝達経路について MAPK ファミリーの ERK1/2 についても検討した。

Ca9-22 を 96 well plate に  $1.0 \times 10^4$  cells / well で播種し、2 ng/mL TNF- $\alpha$  で 48 時間刺激した。刺激後に上清を回収し、IL-8 産生を ELISA にて確認した。その結果、TNF- $\alpha$  刺激により IL-8 の産生が増加することを確認した。Ca9-22 を 12 well plate に  $1.0 \times 10^5$  cells / well で播種し、2 ng/mL TNF- $\alpha$  で刺激後 30 分まで ERK1/2 のリン酸化タイムコースを検討した。刺激後にサンプルを作成し、ERK1/2 のリン酸化をウエスタンブロッティングにて検討した。その結果、TNF- $\alpha$  刺激により ERK1/2 のリン酸化が増強することを確認した。Ca9-22 を 12 well plate に  $1.0 \times 10^5$  cells / well で播種し、各種濃度の MEK1/2 阻害剤 U0126 (1, 5, 10  $\mu$ M) にて 1 時間前処理したのちに 2 ng/mL TNF- $\alpha$  で 10 分間刺激した。刺激後にサンプルを作成し、ERK1/2 のリン酸化をウエスタンブロッティングにて検討した。その結果、U0126 (1, 5, 10  $\mu$ M) 処理により ERK1/2 のリン酸化が抑制されることを確

認した.

以上の結果から、TNF- $\alpha$  はヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 において IL-8 産生を誘導することが示唆された。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

本論文は、ヒト歯肉上皮における炎症の発症と発展機序を解明するために、ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 において腫瘍壊死因子 (TNF) - $\alpha$  刺激によるインターロイキン-8 (IL-8) 産生と ERK1/2 リン酸化との関係を調査している。

その結果、Ca9-22 において TNF- $\alpha$  刺激により IL-8 産生が増加することを発見した。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、TNF- $\alpha$  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させるが、U0126 処理により ERK1/2 のリン酸化は抑制させるとの結果を得た。

以上、本論文はヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 において TNF- $\alpha$  が IL-8 の産生を誘導すること、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ことを解明した。これらの新発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。

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。