

ふ り が な 氏 名	ふみもと ちひろ 文元 智優
学 位 の 種 類	博士（歯学）
学 位 記 番 号	甲 第 1015 号
学位授与の日付	令和 7 年 3 月 7 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学 位 論 文 題 目	MiR-146a Is Mutually Regulated by High Glucose Induced Oxidative Stress in Human Periodontal Ligament Cells （ヒト歯根膜細胞における高血糖の酸化ストレスと miR-146a 発現の相互制御）
学 位 論 文 掲 載 誌	International Journal of Molecular Schiencs 第 25 巻 第 19 号 令和 6 年 10 月
論 文 調 査 委 員	主 査 梅田 誠 教授 副 査 橋本 典也 教授 副 査 本田 義知 教授

## 論文内容要旨

糖尿病（DM）は歯周病の主要な危険因子である。糖尿病性歯周炎では、糖尿病による高血糖が歯周組織の創傷治癒や骨分化を阻害することが知られている。ヒト歯根膜細胞（hPDLCs）は歯周病の進行、創傷治癒、組織再生など様々な機能を持つ歯周組織において重要な細胞である。高グルコース条件下では炎症性サイトカインの産生が誘導されることが報告されている。

マイクロ RNA（miRNA）は、長さがわずか 20～25 ヌクレオチドの小さな非コード RNA であり、転写後調節に関与している。miRNA の一種である miR-146a は炎症に関与しており、高血糖状態で産生される活性酸素種（ROS）と相互に制御されている可能性がある。本研究では、hPDLCs を用いて、高グルコース条件下における miR-146a の影響と、酸化ストレスおよび炎症性サイトカインの制御への関与について検討した。

高グルコース（24 mM）にて刺激後、細胞増殖能を評価した。また同条件下での炎症性サイトカイン、miR-146a、インターロイキン-1 受容体関連キナーゼ 1（IRAK1）および TNF 受容体関連因子 6（TRAF6）の発現を検討した。さらにウエスタンブロット法にて miR-146a の制御に関連する細胞内シグナルを検討した。また、抗酸化剤である N-Acetyl-L-cysteine（NAC）を使用することで、高グルコース状態で誘導された ROS による hPDLCs への影響について検討を行なった。

hPDLCs を 24 mM 条件下で培養したところ、細胞増殖には影響がなかった。炎症性サイトカインの発現、ROS の誘導、IRAK1 および TRAF6 の発現は増加したが、miR-146a の発現は減少した。miR-146a の関連しているシグナル伝達として NF- $\kappa$ B 経路を調べたところ、24 mM 刺激群にて NF- $\kappa$ B の

リン酸化が増加した。また, NAC による ROS 誘導の抑制により miR-146a の発現が回復し, 高血糖条件下での炎症性サイトカインの発現が減少した。さらに, miR-146a の過剰発現は, 炎症性サイトカイン, IRAK1, TRAF6 の発現と NF- $\kappa$ B のリン酸化をグルコース条件に関係なく有意に抑制した。高血糖状態による酸化ストレスは, hPDLCs における miR-146a の発現を抑制することで炎症性サイトカインの発現を増加させる可能性がある。

以上より, 高グルコース条件下において, 酸化ストレスと miR-146a の発現が hPDLCs において相互に制御されていることを示唆している。

### 論文審査結果要旨

糖尿病 (DM) は歯周病の主要な危険因子である。糖尿病性歯周炎では, 糖尿病による高血糖が歯周組織の創傷治癒や骨分化を阻害することが知られている。ヒト歯根膜細胞 (hPDLCs) は歯周病の進行, 創傷治癒, 組織再生など様々な機能を持つ歯周組織において重要な細胞である。高グルコース条件下では炎症性サイトカインの産生が誘導されることが報告されている。

マイクロ RNA (miRNA) は, 長さがわずか 20~25 ヌクレオチドの小さな非コード RNA であり, 転写後調節に関与している。miRNA の一種である miR-146a は炎症に関与しており, 高血糖状態で産生される活性酸素種 (ROS) と相互に制御されている可能性がある。本研究では, hPDLCs を用いて, 高グルコース条件下における miR-146a の影響と, 酸化ストレスおよび炎症性サイトカインの制御への関与について検討した。

結果として, hPDLCs を 24 mM 条件下で培養したところ, 細胞増殖には影響がなかった。炎症性サイトカインの発現, ROS の誘導, IRAK1 および TRAF6 の発現は増加したが, miR-146a の発現は減少した。miR-146a の関連しているシグナル伝達として NF- $\kappa$ B 経路を調べたところ, 24 mM 刺激群にて NF- $\kappa$ B のリン酸化が増加した。また, NAC による ROS 誘導の抑制により miR-146a の発現が回復し, 高血糖条件下での炎症性サイトカインの発現が減少した。さらに, miR-146a の過剰発現は, 炎症性サイトカイン, IRAK1, TRAF6 の発現と NF- $\kappa$ B のリン酸化をグルコース条件に関係なく有意に抑制した。高血糖状態による酸化ストレスは, hPDLCs における miR-146a の発現を抑制することで炎症性サイトカインの発現を増加させる可能性があると考えられる。

本論文の意義は, 高グルコース条件下において, 酸化ストレスと miR-146a の発現が hPDLCs において相互に制御されていることを示唆している。

以上より, 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。