

ふりがな氏名	もろとう ひでとし 諸頭 秀俊
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 943 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 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	Effects of a co-stimulation with S-PRG filler eluate and muramyl dipeptide (MDP) on matrix metalloproteinase-1 production by human dental pulp fibroblast-like cells （ヒト歯髓由来線維芽細胞様細胞におけるマトリックスメタロプロテアーゼ - 1 産生に対する S-PRG フィラー溶出液およびムラミルジペプチド（MDP）による共刺激の影響）
学位論文掲載誌	Dental Materials Journal 第 42 巻 第 3 号 令和 5 年 6 月
論文調査委員	主査 山本 一世 教授 副査 前田 博司 教授 副査 合田 征司 教授

論文内容要旨

歯髓の可逆性および不可逆性歯髓炎で起こる炎症性破壊は、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) および MMP 組織阻害剤 (TIMP) によって部分的に制御されている。NOD2 は、ペプチドグリカンフラグメントであるムラミルジペプチド (MDP) によって活性化され、炎症誘発性免疫応答を誘導する。S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6 種類のイオン (F, Na, Al, B, Sr, および Si) 徐放能を有する齲蝕抑制効果の高い材料として知られている。S-PRG フィラーと MEM- α を懸濁させ上清をろ過して作製した S-PRG フィラー溶出液にも、S-PRG フィラーから放出された 6 種類のイオンが含まれる。今回、S-PRG フィラー溶出液が MDP 刺激したヒト歯髓線維芽細胞様細胞 (hDPF) の MMP-1 産生に及ぼす影響について検討した。

hDPF に S-PRG フィラー溶出液 (0, 0.01, 0.1, 1 %) と 10 μ g/mL MDP 刺激を加えて 24 時間刺激した後、細胞増殖試薬 WST-8 と反応させ細胞増殖能を検討した。その結果、S-PRG フィラー溶出液と MDP 刺激は hDPF の細胞増殖能に対して影響を及ぼさないことを確認した。次に、増殖実験と同様の刺激を加えた後、上清を濃縮してサンプルを作成しウエスタンブロット法にて MMP-1 の検出を行った。hDPF での MMP-1 産生は、0.1% 以下の S-PRG フィラー溶出液では増強しなかったが 1% の S-PRG フィラー溶出液刺激では増強した。次に各種濃度 MDP (0, 1, 5, 10, 20 μ g/mL) 刺激による MMP-1 産生に対する影響を検討した。

その結果、MDP の用量依存的に MMP-1 産生が増強され、そのピークは 10 μ g/mL であった。また、0.1% S-PRG フィラー溶出液と MDP による共刺激は、MDP 処理単独よりも強い MMP-1 の産生をもたら

した。しかし、この S-PRG フィラー溶出液と MDP 共刺激による MMP-1 の産生増強は、ストロンチウムが結合するカルシウム感知受容体 (CaSR) の選択的かつ強力なアンタゴニスト NPS 2143 により減弱した。hDPF を NPS 2143 で 1 時間前処理した後に S-PRG フィラー溶出液と MDP にて共刺激し、細胞を可溶化してウェスタンブロット法にてリン酸化 ERK 1/2 の検出を行った。S-PRG フィラー溶出液と MDP による共刺激は ERK 1/2 のリン酸化を増強したが、NPS 2143 により ERK 1/2 のリン酸化の増強は抑制された。

以上の結果から、単独では影響を及ぼさない低濃度 (0.1%) の S-PRG フィラー溶出液が、MDP と共刺激した場合に MMP-1 産生を増強することが示唆された。また、その作用のメカニズムには S-PRG フィラー溶出液中のストロンチウムによる ERK 1/2 のリン酸化活性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、炎症誘発性免疫応答を誘導するムラミルジペプチド (MDP) や S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラー溶出液を用いて、ヒト歯髄由来線維芽細胞を刺激し、細胞外マトリックス分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs) の産生と細胞外シグナル調節キナーゼである extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) の影響について検討したものである。

本研究で使用した細胞は、大阪歯科大学医の倫理委員会承認 (大歯医倫 111112 号) のもと参加同意を得た患者の健全歯より歯髄組織を採取・培養し、3~10 世代目をヒト歯髄由来線維芽細胞として実験に供している。

ヒト歯髄線維芽細胞様細胞における S-PRG フィラー溶出液単独刺激や MDP との共刺激による細胞毒性を検討している。その結果、S-PRG フィラー溶出液と MDP 刺激は、ヒト歯髄線維芽細胞様細胞の細胞増殖能に対して影響を及ぼさないことを確認した。S-PRG フィラー溶出液刺激や MDP 刺激での MMP-1 産生について、またストロンチウムが結合するカルシウム感知受容体 (CaSR) の選択的かつ強力なアンタゴニスト NPS 2143 が MMP-1 産生に影響について検討している。その結果、0.1% 以下の S-PRG フィラー溶出液刺激では増強しなかったが、1% の S-PRG フィラー溶出液刺激では増強した。MDP 刺激は用量依存的に MMP-1 産生が増強され、そのピークは 10 μ g/mL であるとの結果を得ている。また、0.1% S-PRG フィラー溶出液と MDP による共刺激は、MDP 単独刺激よりも強い MMP-1 の産生をもたらした。NPS2143 は MMP-1 産生を減少させるとの結果を得た。S-PRG フィラー溶出液刺激と MDP 刺激による ERK1/2 のリン酸化や ERK1/2 のリン酸化に対する NPS 2143 の影響についても検討している。

その結果、MDP 単独刺激により ERK1/2 のリン酸化は増強し、0.1% S-PRG フィラー溶出液と MDP による共刺激では、MDP 単独刺激よりも強い ERK1/2 のリン酸化をもたらした。また、NPS2143 は ERK1/2 のリン酸化を減少させるとの結果を得た。

実験結果より、単独では影響を及ぼさない低濃度 (0.1%) の S-PRG フィラー溶出液が、MDP と共刺激された場合に MDP 刺激による MMP-1 産生を増強することが示唆された。また、その作用メカニズムには S-PRG フィラー溶出液中のストロンチウムによる ERK1/2 のリン酸化活性が関与していることが示唆された。

以上、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。