

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	坂田 修三
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Effects of High-Frequency Near-Infrared Diode Laser Irradiation on IL-1 $\beta$ -Induced Expression of Inflammatory Cytokines and Matrix Metalloproteinases in Human Primary Chondrocytes （ヒト初代培養軟骨細胞における炎症性サイトカインおよびマトリックスメタロプロテアーゼの IL-1 $\beta$ 誘導性発現に対する高周波近赤外半導体レーザー照射の影響）			
論文審査担当者			
主査	教授 加藤 功一	印	
審査委員	教授 宮内 睦美		
審査委員	教授 太田 耕司		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>変形性顎関節症（TMJ-OA）は関節軟骨の破壊を初期病変とする退行性疾患である。下顎頭軟骨の破壊による関節機能障害に加えて、重篤な顎偏位や顔面変形が引き起こされ、矯正歯科治療をより困難にすることがある。初期の TMJ-OA の病態として、下顎頭に生体の許容能を超えた過度な機械的負荷が加わると Interleukin-1<math>\beta</math> (IL-1<math>\beta</math>) などの炎症性サイトカインが誘導され、基質分解酵素（MMPs）の産生亢進を介して、II型コラーゲン、アグリカンなどの基質の破壊が惹起されると考えられている。</p> <p>レーザーは励起状態にある物質の誘導放射により発生する特定の電磁波であり、その波長により様々な特徴を有するため、医療分野に広く応用されている。中でも近赤外領域の半導体レーザー（NIR レーザー）は優れた組織浸透性を有するため、関節損傷や骨折の治療促進に応用されている。近年、パルス幅を短縮化した高周波 NIR レーザーが開発され、組織内に熱損傷を及ぼすことなく、高いピークパワーで光エネルギーをより効率的に組織内へ浸透させることが可能となった。しかしながら、NIR レーザーが関節軟骨炎症に及ぼす影響やその作用機序については不明な点が多く、詳細な検討を行った報告は少ない。そこで本研究では、ヒト初代培養軟骨細胞（NHAC-Kn）に誘導された炎症に対する NIR レーザー照射の影響について調べるとともに、その作用機序について検討した。</p> <p>はじめに、NHAC-Kn に対する NIR レーザーの照射が炎症性サイトカイン及び MMPs の発現に及ぼす影響について検討した。NHAC-Kn を 80%コンフルエントに到達するまで培養した後、リコンビナントヒト IL-1<math>\beta</math> を添加し炎症を誘導した。IL-1<math>\beta</math> 添加直後に NIR レーザー照射を行い、炎症性サイトカイン [IL-1<math>\beta</math>、IL-6、及び tumor necrosis factor-<math>\alpha</math> (TNF-<math>\alpha</math>)]、MMP-1 及び MMP-3 の遺伝子発現について定量 polymerase chain reaction (PCR) 法を用いて検討を行った。また、MMP-1 および MMP-3 のタンパク質発現について、ウエスタンブロット法による解析を行うとともに、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) による定量評価を行った。</p> <p>次いで、NIR レーザー照射が、NHAC-Kn の IL-1<math>\beta</math> 誘導性炎症における nuclear factor-kappa B (NF-<math>\kappa</math>B) シグナル伝達経路に及ぼす影響について検討した。NF-<math>\kappa</math>B のリン酸化について、ウエスタンブロット法および ELISA にて解析を行うとともに、核内移行および転写活性について、ウエスタンブロット法、蛍光免疫染色、ELISA、並びに EMSA によって検討した。</p>			

以上の実験により以下の結果が得られた。

1. NHAC-Kn に IL-18 を添加することにより、IL-18、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MMP-1 及び MMP-3 の遺伝子発現が有意に亢進した。また、IL-18 添加によって亢進されたそれらの遺伝子発現が、NIR レーザー照射を行うことで有意に抑制された。MMP-1 及び MMP-3 のタンパク質の発現量は、IL-18 の添加により有意に増加した。また、IL-18 の添加によって増加した MMP-1 及び MMP-3 のタンパク質発現量は、NIR レーザー照射により有意に減少した。
2. NF- $\kappa$ B のリン酸化は IL-18 の添加により有意に亢進したが、NIR レーザー照射により有意に抑制された。また、レーザー照射は NF- $\kappa$ B のリン酸化に有意な変化を及ぼさなかった。そして、IL-18 を添加することで、NF- $\kappa$ B の核内移行が認められる細胞の割合は約 40%増加し、NIR レーザーの照射によって約 10%減少した。さらに、核内に移行した NF- $\kappa$ B の転写活性は IL-18 の添加により有意に亢進したが、NIR レーザーの照射によって有意に抑制された。

以上の結果より、NIR レーザー照射はヒト培養軟骨細胞において、IL-18 の添加により誘導された炎症性サイトカイン及び MMPs の発現を抑制することが明らかになった。またその作用機序として、NF- $\kappa$ B シグナル伝達経路を介することが示唆された。これらの所見は、TMJ-OA に対する NIR レーザー治療の将来的な可能性を提案するものと推察された。

これらの研究成果は、歯科矯正学をはじめ歯科医学の発展に寄与するものが大きいと評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が坂田 修三に博士（歯学）の学位を授与することに十分な価値があるものと認めた。