

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	熊谷 友樹
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Oxytocin suppresses CXCL10 production in TNF- α -stimulated human dental pulp stem cells (Oxytocin は TNF- α 刺激ヒト歯髄幹細胞の CXCL10 産生を抑制する)			
論文審査担当者			
主 査	教授 吾郷 由希夫	印	
審査委員	教授 野村 良太		
審査委員	講師 重石 英生		
〔論文審査の結果の要旨〕			
【背景と目的】			
<p>歯髄炎は、主にう蝕原因細菌の侵襲に対する歯髄の生体防御機構によって惹起される。すなわち、象牙質に侵入したう蝕原因細菌およびその細菌が産生する病原因子が、象牙質を通して象牙質近傍の歯髄に分布する樹状細胞およびマクロファージなどの免疫担当細胞を活性化することによって、歯髄炎が発症する。う蝕の進行に伴い、歯髄組織へのリンパ球の浸潤が顕在化するとともに、歯髄構成細胞である歯髄幹細胞から様々な炎症関連メディエーターが産生され、炎症反応がさらに進展・波及する。CXC chemokine ligand 10 (CXCL10) は、主に T helper 1 (Th1) 細胞の浸潤に関与しているケモカインであり、歯髄炎病変局所において高発現していることが報告されている。</p> <p>Oxytocin は下垂体後葉ホルモンの一つで、視床下部室傍核および視索上核の大細胞神経分泌ニューロンの細胞体で産生され、下垂体後葉に投射した軸索終末より血中に分泌される。Oxytocin の生理的役割として、従来、子宮収縮作用や乳汁分泌作用がよく知られているが、近年 oxytocin が向社会性行動や信頼関係の構築にも関与していること、また骨モデリングを正に調節することが明らかになった。さらに、関節リウマチモデルマウスにおいて血中の oxytocin 濃度が上昇していることが報告され、oxytocin は鎮痛や抗炎症作用、ストレス緩和作用などを有することが示唆されている。口腔機能との関連においては、oxytocin が歯根膜幹細胞や象牙芽細胞の石灰化を促進することが報告されている。しかしながら、oxytocin が歯髄の炎症に及ぼす影響については不明である。</p> <p>本研究では、炎症歯髄組織における oxytocin の役割を明らかにするため、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor-α (TNF-α) で刺激したヒト歯髄幹細胞 (human dental pulp stem cells; HDPSCs) における CXCL10 の産生に及ぼす oxytocin の作用と、oxytocin が関わるシグナル伝達経路について検討した。</p>			
【材料および方法】			
<p>HDPSCs は Lonza 社から購入し、10%FBS を含む MEM-α 培地を用いて培養し、5~10 代継代した細胞を実験に供した。Oxytocin (0.1, 1, 10 ng/ml) の HDPSCs に対する細胞毒性を MTT アッセイにより検討するとともに、HDPSCs における oxytocin 受容体の発現を蛍光免疫染色および western blot 法によって解析した。</p> <p>Oxytocin 存在下あるいは非存在下で HDPSCs を TNF-α (10 ng/ml) で刺激し、ELISA キットを用いて CXCL10 産生量を定量した。また、TNF-α 刺激による CXCL10 産生に関与する細胞内シグナル伝達経路を解明するため、各種シグナル伝達阻害薬処理後に TNF-α 刺激を行い、同様に CXCL10 産生量を測定した。さらに、oxytocin の細胞内シグナルへの影響を明らかにするため、p38 MAPK, ERK, JNK, NF-κB, Akt のリン酸化を western blot 法によって解析した。</p>			

【結果】

本実験で用いた濃度の oxytocin は、HDPSCs に対して細胞毒性を示さなかった。また、HDPSCs が oxytocin 受容体を発現していることを確認した。

TNF- α 刺激により CXCL10 の産生が著明に増加し、また oxytocin は TNF- α 刺激により誘導された CXCL10 を用量依存的に抑制した。このような条件下、p38 MAPK 阻害薬、JNK 阻害薬、NF- κ B 阻害薬および Akt 阻害薬は TNF- α による CXCL10 の産生を有意に減少させたが、ERK 阻害薬は影響を与えなかった。

Oxytocin は、TNF- α による ERK のリン酸化を増強した一方で、p38 MAPK および Akt のリン酸化を抑制した。また oxytocin は、JNK、NF- κ B のリン酸化には影響を与えなかった。

【結論】

本研究の結果から、HDPSCs は oxytocin 受容体を発現しており、oxytocin は p38 MAPK および Akt を介するシグナル伝達経路を阻害することによって、TNF- α 刺激による CXCL10 の産生を抑制することが明らかになった。このことは、血中に存在する oxytocin が歯髄幹細胞からの CXCL10 産生を抑制することによって、Th1 細胞の浸潤を抑制し、歯髄炎における炎症反応を制御している可能性を示唆するものである。

以上、従来知られる抗炎症作用や石灰化誘導作用に加え、歯髄幹細胞に対する直接的な作用を発見した本研究結果から、oxytocin が新規歯髄保存療法の開発のための有用な因子であることが期待される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が熊谷友樹に博士（歯学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。