

# 論 文 内 容 要 約

Oxytocin suppresses CXCL10 production in  
TNF- $\alpha$ -stimulated human dental pulp stem cells  
(Oxytocin は TNF- $\alpha$ 刺激ヒト歯髄幹細胞の CXCL10 産生を抑制する)

Cell Biology International, 46(9):1530-1535,2022.

熊谷 友樹

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

【緒言】 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が発動すること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、象牙細管を通して象牙質近傍の歯髄に分布してい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、歯髄組織にリンパ球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発現していることが報告されている。

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 は性差なく普遍的に発現し、様々な役割を担っている。Oxytocin の古典的生理的役割として子宮収縮作用、乳汁分泌作用が知られていた。しかしながら、近年、Oxytocin は社会性行動や信頼関係構築にも関与していることや骨モデリングを正に調節することが明らかになった。一方、関節リウマチモデルマウスにおいて血中の Oxytocin 濃度が上昇することが報告されている。また、Oxytocin は鎮痛・抗炎症作用・ストレス緩和作用および摂食抑制作用などを有することも示唆されている。口腔分野においては、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。

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に、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) で刺激したヒト歯髄幹細胞 (HDPSC) における CXCL10 の産生に及ぼす Oxytocin の影響と Oxytocin が関わるシグナル伝達経路を検討した。

【材料および方法】 ヒト歯髄幹細胞 (HDPSC) は Lonza 社から購入し、10%FBS を含む MEM- $\alpha$  培地を用いて培養し、5 から 10 代継代した細胞を実験に供した。Oxytocin (0.1, 1, 10 ng/ml) の HDPSC に対する細胞障害性を検討するとともに、HDPSC における Oxytocin receptor の発現を蛍光免疫染色および western blot 法によって解析した。

Oxytocin 存在下あるいは非存在下で HDPSC を TNF- $\alpha$  (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、HDPSC の TNF- $\alpha$  誘導 CXCL10 産生に関与するシグナル伝達経路を解明するために、各シグナル伝達阻害物質処理後、TNF- $\alpha$  刺激を行い、CXCL10 産生量を同様に測定した。さらに、Oxytocin が関わる細胞内シグナル伝達経路を調べるために、MAPK-p38、ERK、JNK、NF- $\kappa$ B、Akt の活性化を western blot 法によって解析した。

【結果】 本実験で用いた濃度の Oxytocin は HDPSC に対して細胞障害性を示さなかった。また、HDPSC は Oxytocin receptor を発現していた。

TNF- $\alpha$  刺激により HDPSC の CXCL10 の産生は誘導され、Oxytocin は TNF- $\alpha$  刺激で誘導さ

れる HDPSC の CXCL10 産生を抑制した。また、MAPK-p38 阻害剤、JNK 阻害剤、NF- $\kappa$ B 阻害剤および Akt 阻害剤は有意に TNF- $\alpha$  が誘導した CXCL10 産生量を減少させたが、ERK 阻害剤は TNF- $\alpha$  が誘導した CXCL10 産生に影響を与えなかった。

Oxytocin は TNF- $\alpha$  によって活性化された ERK のリン酸化を促進したが、MAPK-p38 および Akt のリン酸化を抑制した。また、Oxytocin は JNK、NF- $\kappa$ B のリン酸化には影響を及ぼさなかった。

**【考察】** Th1 細胞の遊走を誘導するケモカインである CXCL10 は、歯髄炎にも関与している。さらに、Interferon- $\gamma$  や TNF- $\alpha$  などの炎症性メディエーターで刺激された培養歯髄線維芽細胞は、CXCL10 の産生を誘導することが報告されている。これまでの報告同様に、本研究においても、TNF- $\alpha$  は HDPSC の CXCL10 産生を促進した。

Oxytocin は、女性でも男性でも血中に同程度の濃度で存在し、元来は性行動、出産、乳汁分泌、射精、精子輸送といった生殖機能のみに関与すると推定されていたが、他の作用も報告された。例えば、Oxytocin は骨形成に関与し、骨粗鬆症の症状を改善することが示唆されている。さらに Oxytocin は消化管においても生理学的効果を発揮することから、腸の炎症を制御するための Oxytocin 関連治療薬への応用が考えられている。口腔分野において、Oxytocin は歯根膜幹細胞や象牙芽細胞の石灰化を促進することがすでに示されている。本研究は、Oxytocin が TNF- $\alpha$  刺激 HDPSC の CXCL10 産生を抑制することを初めて明らかにした。TNF- $\alpha$  刺激 HDPSC に対する Oxytocin の抗炎症作用を示し、Oxytocin が歯髄炎の炎症抑制に関与していることを示した本研究は非常に意義がある。

Akt は歯髄常在細胞の炎症反応に関与している。また、MAPK も歯髄常在細胞の炎症に重要な役割を果たしている。本研究から、Oxytocin 処理は ERK リン酸化を誘導したが、ERK は TNF- $\alpha$  刺激 HDPSC からの CXCL10 産生に関連していないことが示された。一方、本研究は、Oxytocin による炎症反応シグナル分子 Akt および p38 MAPK のリン酸化阻害が、HDPSC における TNF- $\alpha$  誘導性の CXCL10 産生量増加の抑制に関与することを示したことから、TNF- $\alpha$  誘導性の炎症を抑制するための Oxytocin の標的分子は Akt および MAPK-p38 であることが判明した。

**【結論】** 本研究の結果から、HDPSC は Oxytocin receptor を発現しており、Oxytocin は MAPK-p38 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- $\alpha$  刺激 HDPSC の CXCL10 産生を抑制することが明らかとなった。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 細胞の浸潤を制御し、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。

以上、抗炎症作用と石灰化誘導作用を併せ持つ Oxytocin は、歯髄保存療法の開発のために有用な因子であることが期待される。