

氏名(本籍地) 増田隆宏(広島県)
 学位記および番号 歯学博士, 甲 第265号
 学位授与の日付 平成21年3月10日
 学位論文題名 「Mouse macrophages primed with alendronate down-regulate monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α) production in response to Toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 agonist」
 論文審査委員 (主査) 渡邊弘樹教授
 (副査) 清浦有祐教授
 木村裕一教授

論文の内容および審査の要旨

骨吸収抑制薬である窒素含有ビスホスホネート(NBPs)投与患者で顎骨骨髄炎・骨壊死が発症するとの報告が世界各地でなされており, 我が国でも多くの症例が報告されている。そのため, NBPsによる顎骨骨髄炎・骨壊死の発症メカニズムとその予防法を明らかにすることは歯科医学における緊急かつ重要な研究課題の一つである。本論文の研究は, 代表的なNBPsであるalendronate(ALD)が口腔細菌感染に対する宿主応答に及ぼす影響とそれが感染症の増悪にどのように関連しているかを解明するためにおこなったものである。具体的には, 感染防御において白血球の活性化と遊走を誘導することで炎症の進行に重要な役割を果たすケモカインの一種である単球走化活性因子1(MCP-1)とマクロファージ炎症性タンパク質(MIP-1 α)の産生がALDによってどのような影響を受けるのかを検討した。

実際の実験は以下のようにしておこなった。マウスマクロファージ様細胞株J774.1をRPMI1640培地を用いて, 96穴平底マイクロプレートに1穴あたり 2×10^5 個播種した。一晚培養後, 同細胞を100 μ M ALD含有または不含の培地でさらに24時間培養し, RPMI1640培地で2回洗い, TLRリガンド(Pam3CSK4, リピドA)を含む, または含まないRPMI1640培地で24時間培養した。そして, 上

清中のMCP-1とMIP-1 α の産生をELISAキットで検討した。また, J774.1細胞内のカスパーゼ8の活性化はカルボキシフルオレセイン標識基質を用いたフローサイトメトリーで検討した。

その結果, ALD前処理により, TLRリガンド刺激によるJ774.1細胞のMCP-1とMIP-1 α の産生が減少した。カスパーゼ8活性化経路でケモカインの産生が増加する報告があるので, ALDがカスパーゼ8活性化を抑制するか否か検討した。しかし, ALD前処理でカスパーゼ8が活性化した。また, TGF- β 1は転写因子Smad3活性化を介してMCP-1産生を減少させるのでALD前処理J774.1細胞と非処理細胞のTGF- β 1産生を比較したが, ALDによる差はみられなかった。

以上の結果から, ALD前処理によってJ774.1細胞のTLRリガンド誘導MCP-1とMIP-1 α の産生が減少することが明らかになった。また, そのメカニズムとしては通常のケモカイン産生の抑制で考えられるカスパーゼ8活性化の抑制およびTGF- β 1産生の増強によるものではなく, それらには非依存であることも明らかとなった。マウス骨芽細胞様細胞のSmad3がALDにより増加する報告があることから, ALDは直接Smad3の活性化を惹起することで, MCP-1の産生を減少させる可能性が考えられた。

本論文の審査では, まず申請者から論文内容の説明がおこなわれ, それに対して審査委員から質疑があった。質疑の主なものは1) ALDの骨組織に及ぼす影響はどのようなものか, 2) ケモカインの役割とTGF- β 1がその産生に及ぼす影響はどのようなものか, 3) NBPsの有害事象の発現予防に今回の研究結果をどのように結びつけるのかということであった。これらに対して申請者からは的確な回答がなされた。この論文は緊急かつ重要な課題でありながら, いまだ十分な解明がなされていないMBPsによる顎骨骨髄炎・骨壊死の発症メカニズムの一端を宿主のケモカイン産生の抑制が担う可能性をそのメカニズムもからめて明らかにしたものである。したがって, 審査委員会では学位授与に値するものと判定した。

掲載雑誌

International Immunopharmacology 9(2009)
1115~1121