

### 学位論文審査の要旨

受理番号	第 334 号	氏名	沼 田 匠
審査委員氏名	主 査 <u>清 浦 有 祐</u> 		
	副 査 <u>伊 東 博 司</u> 		
	<u>廣 瀬 公 治</u> 		
	_____ 印		
	_____ 印		
論文題名	ニコチンによるマクロファージからの 炎症性サイトカイン産生促進機構の検索		
論文審査の要旨 (1, 500字以内)	<p><b>研究目的：</b>喫煙と歯周病との関連についての基礎的知見を得るために、歯周病細菌のリポ多糖(LPS)が誘導する炎症性サイトカインの産生をニコチンが促進するか否かについてインターロイキン1 (IL-1) <math>\beta</math>を指標として検索を行った。</p> <p><b>研究方法：</b>ヒトマクロファージ様細胞として用いた U937 細胞にニコチン(0~10<sup>-3</sup>M)と <i>Porphyromonas gingivalis</i> (P.g) 由来LPSを添加し培養を行った。培養終了後、細胞からは total RNAを回収し RT-PCR にて pro-IL-1<math>\beta</math> の mRNA 発現を、また、U937 細胞溶解物における NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3(NLRP3)と caspase-1 の産生、培養上清中のIL-1<math>\beta</math> 産生についてはウエスタンブロットにて検索した。</p> <p><b>研究結果：</b>ニコチンは P.g 由来 LPS が誘導する U937 細胞からの pro-IL-1<math>\beta</math> mRNA の発現を相加的に促進した。さらに、同条件下で得られた U937 細胞の培養上清中の IL-1<math>\beta</math>,</p>		

注：本要旨は、そのまま学位授与の公表として歯学誌に掲載するので、内容は「学位論文内容および審査の要旨」として、1,300字以上1,500字以内の字数で記載する

さらには U937 細胞における NLRP3 および caspase-1 の産生を促進した。

**考察：**マクロファージには歯周局所において破骨細胞活性化因子であるIL-1 $\beta$ を産生し、慢性歯周炎の代表的病変である骨吸収に関与している。今回の研究で、マクロファージ様細胞である U937 細胞にニコチンと P.g-LPS を同時に添加し、IL-1 $\beta$ の前駆体である pro-IL-1 $\beta$  の mRNA 発現と培養上清中の IL-1 $\beta$  産生を検索したところ、両方の発現と産生の促進が認められた。このことは、歯周病患者における喫煙行動は、歯槽骨吸収を促進し、歯周病を増悪させる要因となることが示唆される。一方、このニコチンによるIL-1 $\beta$ の産生促進機構を調べたところ、pro-IL-1 $\beta$ のスプライシングに必要な NLRP3 と caspase-1 の産生が促進されていた。このことは、ニコチンが NLRP3 の集合体であるインフラマソームを活性化させる効果があることを示唆すると同時に歯周病において最も重要なサイトカインである IL-1 の産生機構にニコチンが直接関与する可能性をも示唆する。

**結論：**ニコチンは、U937 細胞において P.g 由来 LPS が誘導する pro-IL-1 $\beta$  mRNA 発現を促進し、NLRP3 と caspase-1 及び IL-1 $\beta$  タンパクの産生を促進する。

**審査の過程と結果：**本論文に関しての審査委員会は平成 26 年 1 月 10 日午後 1 時より開催された。はじめに申請者からの論文の要旨についての説明があり、その後、審査委員から次の質疑があった。1) 研究目的：喫煙と歯周病との関連について免疫担当細胞に着目したのはなぜか。2) 研究方法：実験で用いたニコチン濃度と喫煙者の唾液中ニコチン濃度にはどの位の差があるのか。3) 考察：ニコチンの NLRP3 インフラマソーム活性化はどのように起こるのか。ニコチンによる細胞傷害はどのように起こるのか。インフラマソームの構造とその役割はどのようなものがあるのか。

これらの質問に対し申請者からは適切な回答が得られた。また、審査委員の指摘により、①方法、結論、考察の文の修正、②図の修正、③文献の追加引用の指摘がなされ、後日、適切に加筆修正されたことを各委員が再確認した。

本研究は、喫煙と歯周病との関連についての新たな基礎的知見を提示したものであり、将来的に口腔保健の推進に活用される可能性が期待され、禁煙が推進される社会的背景の中で多大な貢献をもたらすものと考えられる。よって審査委員会は、本論文が申請者に博士(歯学)の学位を授与するのに十分な価値があるものと認め合格と判定した。