

氏名(本籍地) 佐藤直生(秋田県)
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第291号
 学位授与の日付 平成23年10月18日
 学位論文題名 「歯肉上皮細胞における抗菌タンパク質産生機構に関する研究」
 論文審査委員 (主査) 横瀬敏志教授
 (副査) 廣瀬公治教授
 福井和徳教授

論文の内容および審査の要旨

矯正歯科治療による不正咬合改善とそれに伴う口腔衛生状態との関連性の検討は, *Streptococcus mutans*, *Lactobacilli* など唾液中の齲蝕原性細菌数などの寄生体要因に関するものがほとんどであり, 矯正歯科治療に伴う宿主要因, 特に自然免疫との関連性に関する検討はなされていない。そこで本研究では, 成長発育期における機能的顎矯正治療で増加する刺激唾液により変化する口腔内pHが, 宿主要因であり口腔内の自然免疫を担う重要な歯肉上皮細胞からの抗菌タンパク質の産生に与える影響について検討することを目的とした。

ヒト歯肉上皮細胞としてCa9-22を用いた。単層を形成した同細胞を, 50mM-HEPESで緩衝したD-MEM (pH6.8~7.6) に培地を置換し, さらに培養を継続した。所定の時間培養後, Ca9-22からtotal RNAを回収し, ヒトβディフェンシン2 (hBD2), LL37のmRNAの発現をRT-PCRおよびreal-time PCRにより検索した。唾液中の抗菌タンパク質量と細菌との関連を調べるために, 奥羽大学歯学部附属病院矯正歯科で初回診断用資料採得中の14名から刺激時全唾液を採取した。被験者より採取した唾液は5%馬脱繊維血添加Brain heart infusion寒天培地に接種した。同培地を嫌気条件下で48時間培養を行ったのち, 総菌数および黒色色素産生菌数を計測し, 総菌数に占める黒色色素産生菌の割合を求めた。唾液中の抗菌タンパク質であるhBD2とLL37は, ドットプロットによって検出した。

Ca9-22からのhBD2とLL37のmRNA発現は培養環境pHの上昇とともに促進され, pH7.6で最

大となった。次に, この発現促進機構を調べるために, PKCインヒビターであるH7を用いて検討を行った。その結果, H7はCa9-22からのこれら抗菌タンパクのmRNA発現を強く促進した。このことは, 抗菌タンパク質の発現はPKCによりダウンレギュレーションされている可能性を示した。さらに, どのPKCアイソフォームがこれら抗菌タンパク質発現へ影響を与えるかをBisindolylmaleimide I とRottlerinを用いて調べた。その結果, PKCβとδの関与は認められなかったが, PKCζとι/λの関与が強く示された。

一方, 成長発育期における機能的顎矯正治療の進行と唾液中細菌数およびhBD2とLL37の唾液中濃度との関連を検索した。その結果, 機能的顎矯正治療の進行に伴い, 患者唾液中の嫌気培養総菌数に占める黒色色素産生菌の減少が認められ, さらに抗菌タンパク質の濃度が上昇する傾向が認められた。

以上の結果から, 培養環境pHの上昇は歯肉上皮細胞からの抗菌タンパク質mRNA発現を誘導した。これらの現象はセカンドメッセンジャーとしてのPKCζとι/λによりダウンレギュレーションされていることが示唆された。さらに矯正歯科治療の進行により口腔の宿主自然免疫が賦活され, 口腔衛生状態の改善につながる可能性も示唆された。

平成23年10月12日に学位審査が行われた。申請者より研究内容の概要が説明され, 続いて論文の審査に入った。審査員より申請者に対して以下のような質問がなされた。セカンドメッセンジャーのPKCに着目した理由, pHとPKC活性の関連, 矯正装置と唾液のpHの変動等についての質問がなされた。これに対して申請者からは適切な回答がなされた。また, 論文の文章ならびに図の訂正加筆が指摘され, 後日提出された論文はすべて訂正がなされた。本論文は歯科医学の発展に寄与するものであり, 学位の授与に値すると判定した。

掲載雑誌

Orthodontic waves –Japanese Edition– 72巻, 1号 17~24