

4) 炎症性サイトカイン産生におけるアジスロマイシン水和物の抑制効果

○玉井利代子, 清浦 有祐
(奥羽大学・歯・口腔病態解析制御)

【目的】アジスロマイシンは、マクロライド系抗菌薬だが、炎症性サイトカイン産生を抑制することでも広く知られている。本研究では、細菌の菌体成分が引き起こすJ774.1細胞の炎症性サイトカイン産生に対するアジスロマイシン水和物の作用を検討した。

【方法】アジスロマイシン水和物は蒸留水で溶解後、0.22 μm フィルターでろ過してから用いた。菌体成分の合成品は、Toll-like receptor 4リガンドであるリピドAを使用した。マウスマクロファージ様細胞J774.1は、10%ウシ血清含有RPMI1640培地を用いて、37°C、5%CO₂インキュベーターで継代培養後供試した。すなわち、同細胞を96穴プレートに1穴あたり2×10⁶播種して18時間培養した後、無血清RPMI1640培地で3回細胞を洗い、リピドA 100 ng/mlとアジスロマイシン水和物 (0, 12.5, 25 および 50 μM) を含む培地で6時間培養後、上清を回収した。上清中の炎症性サイトカイン、IL-6, MCP-1, MIP-1 α および TNF- α 産生はELISAで検討した。また、J774.1細胞を60 mmディッシュに1枚あたり5×10⁶播種して18時間培養した後、無血清RPMI1640培地で3回細胞を洗い、リピドA (100ng/ml) とアジスロマイシン水和物 (50 μM) を含む培地で6時間培養後、核タンパク抽出を行い、ELISAで転写因子NF- κ BとAP-1の活性化を検討した。

【結果と考察】アジスロマイシン水和物は、リピドAによるJ774.1細胞のIL-6とMIP-1 α の産生が濃度依存的に抑制した。しかしながら、リピドAによる同細胞のMCP-1産生はアジスロマイシン水和物で増加した。一方、TNF- α ではアジスロマイシン水和物による産生の変化がみられなかった。さらに、アジスロマイシン水和物によってAP-1は活性化したが、同抗菌薬はNF- κ Bを活性化しなかった。今後は、同転写因子の抑制剤または上記サイトカインに対する抗体を用いた抑制実験を試みて、アジスロマイシン水和物の炎症性サイトカイン産生制御の機序を検討する。

5) Mineral Trioxide Aggregate セメントの骨形成作用

○前田 豊信¹, 鈴木 厚子², 湯澤 仁¹
馬場 優³, 木村 裕⁴, 加藤 靖正^{1,2}
(奥羽大・歯・口腔機能分子生物学¹,
奥羽大・大学院・口腔生化学²,
奥羽大・歯・総合臨床医学³,
奥羽大学・大学院・歯科保存学⁴)

【目的】Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は象牙質再生作用にあることはよく知られており、アペキシフィケーションや根尖孔症例などにも応用される。最近の研究では、MTAに骨形成能や幹細胞分化誘導能があることがわかってきた。しかし、骨形成能に関して、その分化促進機構については依然として不明点が多い。今回、私たちは、*in vitro* でMTAによる骨芽細胞の石灰化促進機構について詳細に解析したので報告する。

【方法・結果】マウス骨芽細胞様細胞であるMC3T3-E1細胞にMTAの懸濁培養液 (1または2.5 $\mu\text{g} / \text{mL}$) を添加すると、有意な石灰化促進が認められた。最も多い骨基質であるコラーゲンの分解に関与する、MMP-13, MMP-9はMTAの添加で遺伝子発現と活性は有意な上昇を示した。それにも関わらず、基質中に蓄積されるコラーゲン量はMTAの添加で上昇した。これは、MTAによってCol-1, Col-3の遺伝子発現が上昇した結果である。骨基質中の非線維性タンパクで主要なものの一つであるオステオカルシン (OCN) は、MTAの刺激により、遺伝子発現量と培地中への分泌量共に有意な上昇をみせた。しかし、一般にOCNの上流シグナル分子であるBMP-2への影響は認められなかった。一方、小胞体ストレスに深く関与するATF6の遺伝子発現と、タンパクの発現は有意な上昇を認めた。そこで、ATF6がOCN遺伝子発現に関与するのかを調べる目的で、ATF6の活性型であるp50を一過性に強制発現させたところ、OCNの遺伝子発現が上昇した。そこで、MTAの影響によって、OCNプロモーターに結合するATF6の増減を調べる目的で、クロマチン免疫沈降を行った。その結果MTAの刺激でOCNプロモーターに結合するATF6が増加していることが分かった。さらにATF6を活性化する酵素であ