

氏名(本籍地) 沼田 匠(福島県)
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第327号
 学位授与の日付 平成26年3月10日
 学位論文題名 「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」
 論文審査委員 (主査) 清浦有祐教授
 (副査) 伊東博司教授
 廣瀬公治教授

論文の内容および審査の要旨

【研究目的】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) β を指標として検索を行った。

【研究方法】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(0~10⁻³M)と*Porphyromonas gingivalis*(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 β 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 β 産生についてはウエスタンブロットにて検索した。

【研究結果】ニコチンはP. g由来LPSが誘導するU937細胞からのpro-IL-1 β 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 β 、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 β 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 β の前駆体であるpro-IL-1 β のmRNA発現と培養上清中のIL-1 β 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 β の産生促進機構を調べたところ、pro-IL-1 β 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 β mRNA発現を促進し、NLRP3とcaspase-1及びIL-1 β 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。

掲載雑誌

奥羽大学歯学誌 第41巻, 3, 4号 107~114