

Enamel matrix derivative induces an immune response in human alveolar ridge mucosa-derived vascular endothelial cells stimulated with lipopolysaccharide

八板 直道

論文内容の要旨

本研究は、ヒト顎堤粘膜由来血管内皮細胞（ARMEC）に対し *Porphyromonas gingivalis* 由来 lipopolysaccharide（*P.g*-LPS）および enamel matrix derivative（EMD）で刺激し、EMD による ARMEC の免疫応答の変化を検討した。細胞は、ARMEC とヒト歯根膜由来血管内皮細胞（PDLEC）を用い、*P.g*-LPS および EMD を含まない通常培地、*P.g*-LPS のみ添加した培地、EMD のみ添加した培地、*P.g*-LPS および EMD を添加した培地で、それぞれ培養した。各培地が細胞増殖に与える影響は、alarmarBlue cell viability reagent にて評価した。免疫応答は、定量 Real-time PCR を用いて白血球遊走因子 interleukin-8（*IL*-8）、細胞接着分子 intercellular adhesion molecule-1（*ICAM*-1）およびタイトジャンクション構成タンパク質 zonula occludens-1（*ZO*-1）、*occludin* の遺伝子発現を評価した。さらに経内皮電気抵抗値（trans-endothelial electrical resistance：TEER）の測定を行い、以下の結論を得た。

1. ARMEC は、*P.g*-LPS で刺激すると細胞増殖を有意に抑制し、EMD で刺激すると細胞増殖を有意に促進した。
2. *P.g*-LPS で刺激した ARMEC は、PDLEC と比較し *IL*-8、*ICAM*-1 の遺伝子発現の有意な抑制を認め、*ZO*-1 と *occludin* の遺伝子発現が有意に促進した。
3. EMD で刺激した ARMEC は、通常培地で培養した ARMEC と比較し *IL*-8、*ICAM*-1 の遺伝子発現の有意な促進を認め、*ZO*-1、*occludin* の遺伝子発現を有意に抑制し、TEER は有意に低かった。
4. *P.g*-LPS および EMD で刺激した ARMEC は、*P.g*-LPS で刺激した ARMEC と比較し *IL*-8、*ICAM*-1 の遺伝子発現の有意な促進を認め、*ZO*-1、*occludin* の遺伝子発現を有意に抑制し、TEER は有意に低かった。

以上より、EMD は、ARMEC の白血球遊走因子および細胞接着分子の遺伝子発現を促進し、タイトジャンクションを減弱することが明らかになり、ARMEC の免疫応答を変化させる可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ARMEC を *P.g*-LPS および EMD で刺激し、EMD による ARMEC の免疫応答の変化を検討したものである。その結果、EMD は、ARMEC の白血球遊走因子および細胞接着分子の遺伝子発現を促進し、タイトジャンクションを減弱することで、ARMEC の新たな免疫応答を誘導する可能性があることを明らかにした。これらの知見は、インプラント周囲粘膜炎の予防における新たな可能性を示すものであり、歯学に寄与するところが多く、博士（歯学）の学位に値するものとして審査する。

主査 田中 彰
副査 三上 正人
副査 上田 一彦

最終試験の結果の要旨

八板 直道に対する最終試験は、主査 田中 彰教授、副査 三上 正人教授、副査 上田 一彦教授によって、主論文に関する事項を中心として口頭試問が行われ、優秀な成績をもって合格した。