

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	後藤久嗣
論文審査 委員氏名	主査 三谷 章雄 副査 戸苺 彰史 有地 榮一郎		
論文題名	インターロイキン 1 レセプター アンタゴニ スト (IL-1Ra) のコラゲナーゼ 3 (MMP-13) 発現抑制について		

インターネットの利用による公表用

インターロイキン-1 (IL-1) に対し、IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra) は、インヒビターとして働くことが知られている。

歯周組織において、上皮性付着は細胞外マトリックスであるラミニン 5 と、接着分子のインテグリン $\alpha_6\beta_4$ により構成されている。

そこで、本研究では、IL-1Ra が上皮性付着の喪失に与える影響について検討している。

まず、申請者は、ヒト口腔上皮細胞株である Ca9-22 細胞を培養し、small interfering RNA (siRNA) にて IL-1Ra の遺伝子発現を抑制した。そして、PCR array を用い細胞接着に関する半網羅的な遺伝子発現解析を行った。また IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、matrix metalloproteinases (MMP) -13、tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) -1、TIMP-2 の遺伝子発現解析およびタンパク発現解析を行い、MMP-13 の酵素活性測定を行った。

次に、動物実験として、IL-1Ra 欠損 (IL-1Ra KO) マウスを用い、歯周炎を惹起させる目的で、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* 菌 (ATCC 29524 株) (*A.a.*) を培養し *A.a.* 菌体浮遊液を経口投与している。その後、MMP-13 抗体およびラミニン 5 抗体を用い、マウス下顎骨の病理組織学的解析を行った。

その結果、IL-1Ra siRNA を形質導入した群 (ノックダウン群) において IL-1Ra 遺伝子発現が有意に低下していた。また、IL-1Ra タンパク発現もノックダウン群において著明に低下していた。また、PCR array の結果にて、

ノックダウン群で MMP-13 の最も高い発現増加を認めた。そして、各時間経過別のノックダウン群において有意な MMP-13 遺伝子発現増加とタンパク発現増加が確認された。

また、MMP-13 酵素活性測定において、ノックダウン群において有意に高い酵素活性が認められた。TIMP 発現は、ノックダウン群において 12 時間後までの TIMP-1、-2 遺伝子発現の顕著な発現変化は認められなかった。また、タンパク発現においてもノックダウン群において著明な発現変化は確認されなかった。また、ノックダウン群にリコンビナント IL-1Ra を添加した群は、添加していないノックダウン群に比べ有意に MMP-13 の遺伝子発現が抑制されていた。IL-1 発現は、ノックダウン群において IL-1 の有意な遺伝子発現と、タンパク発現の増加は認められなかった。そして、IL-1 中和抗体による MMP-13 発現変化は中和抗体を作用させたいずれの群においても、中和抗体を添加していないノックダウン群と比べ MMP-13 の遺伝子発現変化は認められなかったことを報告している。

実験的歯周炎を惹起させた IL-1Ra KO マウスにおける MMP-13 とラミニン 5 の局在を確認したところ、IL-1Ra KO マウス群において MMP-13 の局在は多く認められたが、ラミニン 5 の局在はほとんど認められなかった。

IL-1 の産生量と中和抗体を作用させた結果からも、IL-1Ra 発現抑制による MMP-13 発現増加は、IL-1 以外の影響によると考えられ、すなわち MMP-13 の発現抑制に対して IL-1Ra が直接的に関与している可能性を示唆

(論文審査の要旨)

No. 3

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

している。

また、動物実験の結果から、IL-1Ra は MMP-13 に対して抑制的に働くことで、MMP-13 によるラミニン 5 の破壊を阻止するという生体防御的に重要な作用を示している。

以上より、本論文は歯周病学および関連諸学科に寄与し、博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。

平成28年1月27日