

# 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	鈴木 佑基
論文審査 委員氏名	主査	三谷 章雄		
	副査	松原 達昭		
		本田 雅規		
論文題名	Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP)は歯周炎を抑制する			

インターネットの利用による公表用

歯周病は糖尿病の慢性合併症の1つであり、健常人に比較し、1型および2型糖尿病患者では歯周病の発症率が高く、重症であることが示されている。糖尿病による高血糖状態の持続に起因する好中球の機能不全、コラーゲン合成阻害、歯根膜線維芽細胞の機能異常、終末糖化産物(advanced glycation end products:AGEs)などによる炎症性組織破壊、微小循環障害、過剰な免疫反応などが、歯周病を増悪させると考えられている。

近年、2型糖尿病のインスリン分泌障害に対する新たな治療戦略としてインクレチンと呼ばれるホルモンが注目されている。インクレチンとは、食事摂取に伴い消化管から分泌され、膵β細胞に作用してインスリン分泌を促進するホルモンの総称で、これまでにGIP(glucose-dependent insulinotropic polypeptide)とGLP-1(glucagon-like peptide-1)の2つのホルモンが確認されている。また、インクレチンは血中のブドウ糖濃度に依存して働くため、低血糖になるリスクが低く安全に食後高血糖を改善することができる。GIPは、インスリン分泌促進作用、膵β細胞容積の増加作用、グルカゴン分泌促進作用など膵内作用と、脂肪蓄積促進作用などの膵外作用が知られている。さらに脂肪細胞に対する抗炎症作用も報告されているが、他の組織に対しての抗炎症効果は明らかではない。

本研究では、GIPの歯周炎に対する効果を検討する目的で、GIP受容体欠損マウス(KO)に実験的歯周炎を惹起し、歯周炎の状態を解析するとともに、GIPの抗炎症作用についてヒト急性単球性白血病細胞株であるTHP-1細胞を

用いて検討した。

実験動物には8週齢雄性、C57BL/6J マウス (WT) および KO を用いた。歯周炎を惹起させる目的で、上顎右側第一臼歯と上顎右側第二臼歯歯間部にリガチャーワイヤーを巻いて結紮し、歯周炎群とした。また、無処置のマウスを対照群とした。実験的歯周炎を作製2週間後に屠殺し、歯周組織における病理組織学的解析と歯肉における遺伝子発現解析を行った。

次に、THP-1細胞を用いて、LPSを100ng/ml、GIPを $10^{-7}$ ~ $10^{-9}$ Mの濃度で添加・刺激し、遺伝子の発現解析を行った。また、THP-1におけるLPS誘導炎症性サイトカイン発現のGIPによる抑制メカニズムを検討する目的で、cAMP、PKAの阻害剤であるMDL-12330AとPKI14-22を用いて、炎症性サイトカイン発現を解析した。

全ての値は、平均値±標準誤差で表し、統計学的解析は one-way ANOVA と Bonferroni multiple comparison testを用いて統計学的に検討し、危険率は  $P < 0.05$  をもって有意とした。

マウスの体重、血糖値はすべての群で有意差は認められなかったが、KOにおいて、対照群に対し歯周炎群では白血球数の有意な増加を認めた。

歯周組織における病理組織学的所見では、WT、KO ともに対照群に比べて歯周炎群では炎症性細胞浸潤の増加を認め、KO 歯周炎群では最も顕著な炎症性細胞浸潤を認めた。抗 Mac-1 抗体を用いて免疫染色を行った結果、WT

対照群において Mac-1 陽性細胞は観察されなかったが、WT 歯周炎群において陽性細胞が確認された。一方、KO 対照群では、歯周組織において少数の陽性細胞が確認され、KO 歯周炎群では、最も多くの陽性細胞が確認された。

歯間部歯肉における遺伝子発現では、WT、KO ともに歯周炎群で TNF- $\alpha$  および iNOS の遺伝子発現が有意に増加した。また、WT 歯周炎群と比較して、KO 歯周炎群で有意に TNF- $\alpha$  および iNOS の遺伝子発現の増加が認められた。IL-1 $\beta$  の発現は、KO で対照群と比較して歯周炎群で有意に増加した。

THP-1 細胞の遺伝子発現において、LPS を添加することで TNF- $\alpha$ 、iNOS の遺伝子発現が有意に増加した。LPS の刺激により増加した TNF- $\alpha$ 、iNOS 遺伝子発現は、GIP の濃度依存的に抑制された。この炎症性サイトカイン発現に対する GIP の抑制効果は cAMP 阻害薬 (MDL-12330A) および PKA 阻害薬 (PKI14-22) の添加により阻害された。

本研究の結果から、GIP は歯周炎に対する抗炎症作用を有することが明らかとなり、新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

以上より、本研究は歯科保存学、内科学、口腔病理学、歯科矯正学をはじめとする関連諸学科に寄与するところが大きく、よって本論文は博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。