

Title	Dental pulp cells promote the expression of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, prostaglandin E2 and Substance P in mechanically stressed periodontal ligament cells
Author(s)	森川, 泰紀
Journal	歯科学報, 118(1): 48-49
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/4467">http://hdl.handle.net/10130/4467</a>
Right	
Description	

氏名(本籍)	もり かわ たい き 森 川 泰 紀 (秋田県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第 2102 号(甲第 1315 号)
学位授与の日付	平成27年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Dental pulp cells promote the expression of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, prostaglandin E <sub>2</sub> and Substance P in mechanically stressed periodontal ligament cells
掲載雑誌名	Archives of Oral Biology 第70巻 158-164頁 2016年 doi : 10.1016/j.archoralbio.2016.06.021
論文審査委員	(主査) 東 俊文教授 (副査) 井上 孝教授 末石 研二教授 齋藤 淳教授 田崎 雅和教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

歯根吸収は歯科矯正治療中に生じる偶発症であり、複雑かつ不可逆的な病的事象である。近年、歯内治療を受けた歯が生活歯と比較し歯科矯正治療中に生じる歯根吸収が少ないことが報告され、歯髓の存在が歯根吸収の程度に影響を及ぼす可能性が示唆されている。歯科矯正治療中の歯根膜における破骨細胞が歯根吸収に関与し、それは、Receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand(RANKL)やOsteoprotegerin(OPG)、Interleukin(IL)やProstaglandin(PG)などの炎症性サイトカイン、Substance P(SP)などの神経ペプチドにより制御されることが知られている。しかし、歯根膜の矯正力に対する反応において、歯髓がどのような影響を及ぼすかはまだ明らかでない。本研究は、ラット歯根膜(PDL)細胞のメカニカルストレスに対する反応において、歯髓(DP)細胞の有無によるRANKL mRNA、IL-6 mRNA および PGE<sub>2</sub>、SP の発現の差異を分子生物学的に検討した。

#### 2. 研究方法

4週齢のSprague-Dawley系雄性ラットの門歯より歯根膜と歯髓組織を採取、培養したのち、第4、5継代目の細胞を実験に用いた。PDL細胞は6ウェルプレートにて培養し、実験開始時にメカニカルストレスとして2000rpm/20minの遠心力を与えた。DP細胞は0.4 $\mu$ m孔の膜を有したセルカルチャーインサートにて培養し、共培養方法はdouble chamber methodにて行った。実験群はメカニカルストレスを与えたPDL細胞にDP細胞を共培養したものとした。PDL細胞にメカニカルストレスを与えず培養した群、PDL細胞にメカニカルストレスを与え培養した群、PDL細胞にメカニカルストレスを与えずにDP細胞を共培養した群の計3群を対照群とした。また、DP細胞にメカニカルストレスを与えずに培養した群もDP細胞の検討のために対照群とした。ストレス付与後1、3日目に定量的RT-PCRにてPDL細胞におけるRANKL mRNAとIL-6 mRNAの発現量を検索し、また、ELISA法にてPDL細胞およびDP細胞におけるPGE<sub>2</sub>とSPの発現量を検索した。

#### 3. 研究成績および考察

PDL細胞のRANKL mRNAとIL-6 mRNA発現量では、実験群は対照群と比べ有意に高い値を示し有意差を認めた(p<0.05)。また、PDL細胞にメカニカルストレスを与え培養した群は他の対照群と比較し3日目

に高い値を示し有意差を認めた( $p < 0.05$ )。PDL細胞のRANKL mRNA および IL-6 mRNA 発現量は、実験群と PDL細胞にメカニカルストレスを与え培養した群で1日目と比べ3日目で有意に増加した( $p < 0.05$ )。PDL細胞と DP細胞の PGE<sub>2</sub> と SP 発現では、実験群は対照群と比べ有意に高い値を示し有意差を認めた( $p < 0.05$ )。また、PDL細胞にメカニカルストレスを与え培養した群も他の対照群と比較し高い値を示し有意差を認めた( $p < 0.05$ )。PDL細胞と DP細胞の PGE<sub>2</sub> 発現は、全ての群において1日目と比べ3日目で有意に減少した( $p < 0.05$ )。PDL細胞の SP 発現は、実験群と PDL細胞にメカニカルストレスを与え培養した群のみ1日目と比べ3日目で有意に減少し、DPにおいては全ての群において有意に減少した( $p < 0.05$ )。メカニカルストレスにより PDL細胞での PGE<sub>2</sub> と SP 発現が増加し、その後 RANKL mRNA および IL-6 mRNA 発現が増加したことが示唆され、DP細胞によってメカニカルストレスによる PDL細胞での反応が助長されることが示唆された。

#### 4. 結 論

DP細胞は、メカニカルストレスを受けた PDL細胞の RANKL mRNA および IL-6 mRNA 発現を PGE<sub>2</sub> と SP を介して助長したことで、歯根吸収に繋がる破骨細胞分化を促進する可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 要 旨

ラット歯根膜(PDL)細胞のメカニカルストレスに対する反応において、歯髄(DP)細胞の有無による RANKL mRNA, IL-6 mRNA および PGE<sub>2</sub>, SP の発現の差異を分子生物学的に検討した。その結果、DP細胞の存在は、メカニカルストレスを付与した PDL細胞の RANKL mRNA と IL-6 mRNA 発現の増加および PGE<sub>2</sub> と SP 発現の増加を示し、DP細胞が PDL細胞のメカニカルストレスに対する反応を助長し、歯根吸収に繋がる破骨細胞分化や炎症を促進する可能性が示唆された。

本論文審査は平成27年2月3日に行われ、まず森川泰紀大学院生より論文概要が提示された後、各審査委員より本論文に対して (1)RANKL および IL-6 の検索法と PGE<sub>2</sub> および SP の検索法の違いについて (2)各因子の時間的相互関係について (3)実際の根尖の状態と実験デザインについてなどの質疑がなされた。(1)については、PGE<sub>2</sub>はその性質上 mRNA レベルでの検索が困難であることから、以前の研究で使用されている ELISA 法にて検索を行った。各因子は検索したものが mRNA またはタンパク質レベルでの発現である旨を明記した。(2)については、刺激に対する SP および PGE<sub>2</sub> の発現速度と RANKL mRNA および IL-6 mRNA の発現速度の違いおよび SP および PGE<sub>2</sub> の RANKL mRNA および IL-6 mRNA への修飾作用を考えると各因子の時間的相互関係は十分に考えられる (3)については、歯根膜と歯髄の位置関係から根尖孔などを介してサイトカインの交通が生じると考えられるが、それらの間には結合組織の介在もあることから、本実験は細胞間の直接接触のない環境としそれらの細胞間の間接的な影響を検索していると概ね妥当な解答が得られた。また用語、英文表記、図表の修正等、について多くの指摘が行われた。

論文内容及びその質疑により概ね妥当な回答が得られたことにより、本研究は今後の歯学の進歩、発展に寄与するところ大であり学位授与に値すると判定した。