

## 論文内容の要旨

### Secreted caveolin-1 enhances periodontal inflammation by targeting gingival fibroblasts.

—分泌されたカベオリン1は歯肉線維芽細胞を標的として歯周炎症を促進する—

(Biomedical Research 第34巻1号1頁～11頁, 平成25年1月)

たきざわ なおき  
滝沢 尚希

#### I. 研究目的

Caveolin-1 (Cav-1) はカベオラと呼ばれる脂質ラフトを構成する主要な膜タンパク質で、様々な受容体の活性化や細胞内シグナル伝達の制御に関与することが知られている。歯肉線維芽細胞 (HGF) の細胞膜に存在する Cav-1 は、Interleukin (IL)-6 誘導性の cathepsin-L 産生を増強することによって歯周炎を増悪させると考えられている。一方で最近、Cav-1 は細胞外にも分泌され、前立腺癌の転移を誘導することが報告された。本研究では HGF における Cav-1 の分泌能を明らかにするとともに、細胞外の Cav-1 の HGF への影響に着目し、歯周炎の増悪における役割について検討した。

#### II. 研究方法

ヒト健常歯周組織から分離した歯肉線維芽細胞 (HGF) および歯根膜線維芽細胞 (HPLF) を炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  または Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  でそれぞれ刺激し、細胞内の Cav-1 および培養上清に分泌された Cav-1 をウェスタンブロット法で検出した。また、Cav-1 の mRNA 発現量の変動をリアルタイム RT-PCR 法で検討した。HGF を Cav-1 で刺激した際に誘導される細胞内シグナル伝達系の活性化については、抗リン酸化 MAP キナーゼ抗体を用いたウェスタンブロット法で検討した。さらに、HGF を Cav-1 で刺激後、培養上清中に分泌された血管内皮増殖因子 (VEGF) を ELISA 法で定量した。

#### III. 研究成績

1. HGF ならびに HPLF を IL-1 $\beta$  または TNF- $\alpha$  でそれぞれ刺激すると、6 時間以内に Cav-1 の mRNA 発現が上昇し、24 時間以内には培養上清中と総細胞タンパク質中における Cav-1 タンパク質の増加が検出された。
2. HGF において Cav-1 刺激で誘導されるシグナル伝達系について検討したところ、Cav-1 処理によりその濃度依存的に、MAP キナーゼのひとつである Jun-N-terminal kinase (JNK) のリン酸化が促進された。一方で、ERK のリン酸化は影響されなかった。
3. HGF を Cav-1 で刺激すると 48 時間以内に培養上清中の VEGF 濃度が増加し、この効果は JNK 特異的阻害剤である SP600125 処理によって有意に抑制された。

#### IV. 考察及び結論

これらの結果から、炎症性サイトカインによる刺激は HGF における Cav-1 の発現を誘導するとともに Cav-1 を細胞外へと分泌し、オートクリン・パラクリンの作用することによって JNK を介したシグナル伝達系を経て VEGF 産生を亢進させることが示された。VEGF は血管新生を亢進させることで歯周炎の増悪に関わるとされる。これまでに、VEGF をターゲットとする分子標的薬は既に開発されて

いるが、今後は Cav-1 も歯周病治療のための分子標的薬のターゲットの1つとして有望なものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 八重柏 隆 (歯科保存学講座 歯周療法学分野)  
副査 教授 石崎 明 (生化学講座 細胞情報科学分野)  
副査 教授 木村 重信 (微生物学講座 分子微生物学分野)

Caveolin-1 (Cav-1) は細胞膜上のカベオラと呼ばれる脂質ラフトを構成する膜タンパク質で、様々な受容体の活性化や細胞内シグナル伝達、さらには食の制御に関与することが知られている。ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) の細胞膜に存在する Cav-1 は、IL-6 誘導性の cathepsin-B および-L 産生を増強することによって歯周炎を増悪させると考えられている。最近、Cav-1 は細胞外にも分泌され、前立腺癌の転移を誘導することが報告された。そこで著者らは、HGF における Cav-1 の分泌能を明らかにするとともに、細胞外の Cav-1 による HGF への影響に着目し、歯周炎の増悪における役割について検討した。

その結果、歯周炎病巣局所で Cav-1 発現細胞が多数存在すること、HGF を IL-1 $\beta$  または TNF- $\alpha$  で刺激すると、6 時間以内に Cav-1 の mRNA 発現が上昇し、24 時間以内には培養上清中における Cav-1 の増加が検出されることを明らかにした。次に、HGF において Cav-1 刺激で誘導されるシグナル伝達系について検討したところ、Cav-1 処理によって JNK 及び ERK のリン酸化が促進されることを示した。また、HGF を Cav-1 で刺激すると 48 時間以内に培養上清中の VEGF や MMP-1 などの炎症増悪因子の濃度が増加し、この効果は VEGF では JNK 阻害剤で、MMP-1 では JNK 及び ERK 阻害剤で有意に抑制されることを示した。

これらの結果から、著者らは、IL-1 $\beta$  または TNF- $\alpha$  による刺激は HGF からの Cav-1 の発現を誘導するとともに Cav-1 を細胞外へと分泌し、オートクリン・パラクリン的に作用することによって JNK 及び ERK を介したシグナル伝達系を経て炎症増悪因子の産生を亢進させることが示唆されると報告した。HGF から分泌される Cav-1 による炎症増悪因子の産生誘導はこれまでに報告されておらず、この成果は、今後 Cav-1 は歯周病の分子標的薬のターゲットの1つとして有望なものと考えられ、学術的意義が高いことから学位に値するものであると評価した。

### 試験・試問結果の要旨

本論文の概要について説明がなされた。研究方法、結果の解釈ならびにその基礎的意義、歯周病治療への応用の可能性について試問した結果、いずれも適切かつ明瞭な回答が得られた。また、歯周病の病態を踏まえ、臨床的意義が十分期待できる今後の研究の展望も述べられ、研究に対する十分な意欲が感じられたことから、学位に値する学識と研究能力を有するものと判定した。

## 参考論文

1. Establishment of mesenchymal stem cell lines derived from the bone marrow of GFP-transgenic mice exhibiting diversity in intracellular TGF- $\beta$  and BMP signaling.  
(Shunsuke Sawada 他 8 名と共著) Molecular Medicine Reports 平成 27 年掲載予定