

論文内容の要旨

チタン表面での骨芽細胞分化に対する IL-17F の促進作用
(岩手医科大学歯学雑誌 第 40 巻 1 号 平成 27 年 4 月)

まつもと ちはや
松本 知生

- I. 研究目的 : Interleukin (IL)-17 ファミリーのうち IL-17A と IL-17F はアミノ酸レベルでの相同性が高く (50%) レセプターも共有するが, その生理活性は異なることが最近の研究から明らかにされてきた. 両者とも線維芽細胞, 上皮細胞, 血管内皮細胞, マクロファージ等に作用して IL-1, IL-6 や TNF- α 等の炎症性サイトカイン, matrix metalloproteinase や抗菌ペプチドの発現を誘導し, 炎症誘導や細菌感染防御に関与しているが, IL-17A は多発性硬化症, 関節リウマチ等の自己免疫疾患の発症やアレルギー応答に中心的役割を果たすことが示唆されている (Iwakura ら, 2011). 一方, IL-17F は自己免疫疾患やアレルギー応答には関与せず, 骨芽細胞の骨分化能を亢進し, 初期の骨修復に関与する可能性が示唆されている (Nam ら, 2012). そこで本研究では, インプラントのオッセオインテグレーションに関連するチタン表面での骨芽細胞の骨分化能に対する IL-17 の役割を明らかにする目的で, ラット抜歯窩およびその修復組織での IL-17 (IL-17F および IL-17A) の動態について検索するとともに, チタン埋入にともなう影響について検討した. またチタン disk 上で培養したマウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1 を用いて, 種々の骨分化マーカー発現に対する IL-17F および IL-17A の作用について検討した.
- II. 研究方法 : 8 週齢の Wistar 系ラットの上顎両側第一臼歯を抜去し, 片側は抜歯のみを実施, 他側は抜歯後に棒状チタンを埋入した. 処置後 1-7 日目に屠殺, トレフィンバーを用いて修復組織を採取し, 採取組織中での IL-17F および IL-17A の発現を nested RT-PCR により検討した. 一方, チタン disk 上で培養した MC3T3-E1 細胞に対しては, rIL-17F および rIL-17A を 20 ng/ml 添加後, 骨分化マーカー [I 型コラーゲン (Col1A), アルカリフォスファターゼ (ALPL), 骨シアロタンパク (IBSP) およびオステオカルシン (BGLAP)] の発現に対する IL-17 の作用について, リアルタイム RT-PCR を用いて検討した.
- III. 研究成績 : 抜歯窩およびその修復組織では, その絶対量は極めて低いものの, IL-17F および IL-17A の産生が認められること, チタン埋入により処置後 3 日目で IL-17F の産生頻度が上昇することが示唆された. In vitro における結果では, チタン disk 上で培養した MC3T3-E1 細胞では IL-17 無添加で, 通常培養と比較して, BGLAP の発現が上昇していた. さらに, IL-17F の添加により ALPL, IBSP の発現が増強された. なお, 両 IL-17 とも細胞増殖活性は示さなかった.
- IV. 考察及び結論 : ラット動物実験から, 抜歯窩の組織修復の初期段階で IL-17 が関与すること, また, チタン埋入により IL-17F の産生が上昇する可能性が示唆された. In vitro 実験においては, 骨芽細胞がチタンと接触することにより, BGLAP の発現上昇が誘導され, IL-17F により ALPL, IBSP の発現がさらに増強された. 上記結果から, IL-17F が骨芽細胞分化マーカーの発現増強作用を介して, チタン表面上での骨芽細胞分化の初期段階に作用することが示唆された.

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 近藤 尚知 (補綴・インプラント学講座)
副査 教授 木村 重信 (微生物学講座 分子微生物学分野)
副査 教授 石崎 明 (生化学講座 細胞情報科学分野)

オッセオインテグレーション獲得のためには顎骨に埋入されたチタン製インプラント表面での骨芽細胞の分化が必須で、その過程は種々のサイトカインにより制御されている。最近の研究では、前炎症性サイトカインの一つである IL-17F が骨芽細胞分化の初期段階で作用することが示唆されている。しかしながら、IL-17F をはじめとした IL-17 スーパーファミリーの、チタン表面上での骨芽細胞分化過程への作用は依然明らかではない。

本研究で著者らは、まずラット動物実験系を用いて、IL-17 の発現を検討した。ラットの上顎両側第一臼歯を抜去し、その一方の抜歯窩にチタン棒 (φ1.0 mm x 2.4 mm) を埋入後、1 から 7 日目にラットを屠殺、両抜歯窩およびその修復組織を採取した。RNA 抽出後、IL-17F および IL-17F と相同性が高く、レセプターを共有する IL-17A の動態を nested RT-PCR により検索した。その結果、抜歯窩の修復過程の初期段階で、その絶対量は極めて少ないものの、IL-17F および IL-17A の産生頻度が上昇する傾向が観察されること、チタン埋入により処置後 3 日目で IL-17F の産生頻度が有意に上昇することを見出した。次に *in vitro* 実験系で、IL-17F および IL-17A の、チタン disk 上で培養した前骨芽細胞である MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞分化マーカーの発現に対する直接的な作用を検討した。その結果、チタン表面では骨芽細胞分化が促進されること、さらにその骨芽細胞分化は IL-17F により骨芽細胞分化マーカーであるアルカリフォスファターゼおよび骨シアロタンパクの発現増強を介して、チタン表面での骨芽細胞分化を促進することを示した。

本研究は、インプラント体埋入後におこる免疫応答を想定し、チタン表面での骨芽細胞分化の初期段階に IL-17F が重要な役割を担っていることを明らかにした初めての報告であり、また、オッセオインテグレーションに関わるチタン表面における骨芽細胞の分化過程の一端を明らかにしたという点で意義の深いものである。本研究から得られた成果は、臨床的にもオッセオインテグレーション獲得のメカニズムに基づくインプラント治療における新たな展開に寄与するものと考えられ、学位に値すると評価した。

試験・試問結果の要旨

論文審査に加えて、本研究の目的、方法、結果などについて本人から説明を受け、質問を行った。また、今後の研究の展開ならびに関連する基本的事項についても試問を行い、適切かつ十分な回答が得られたことから、学位に値する十分な学識と研究能力を有するものと認められた。

参考論文 なし