

## 論文内容の要旨

Enhancement of Anti-inflammatory and Osteogenic Abilities of Mesenchymal Stem Cells via Cell-to-Cell Adhesion to Periodontal Ligament-Derived Fibroblasts

間葉系幹細胞が有する抗炎症作用ならびに骨芽細胞分化能は

歯根膜線維芽細胞との細胞間接着によって増強される

(Stem Cell International 平成 29 年掲載予定)

すずき けいた  
鈴木 啓太

### I. 研究目的

組織破壊を伴う重篤な炎症は、主として局所に浸潤したマクロファージから分泌される IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの作用による過剰な炎症反応が要因とされている。歯周組織の炎症も例外ではなく、我々はこれまでに歯肉線維芽細胞への種々の炎症性サイトカインによる相乗的作用や細胞外マトリックス分解酵素の発現促進効果を報告している。一方、組織破壊を伴う炎症の治癒には、結合組織構成細胞への分化能を有する間葉系幹細胞 (MSC) が関与する。MSC はケモカインの作用により炎症部位に集積し、抗炎症作用や組織修復に働くとされる。しかしながら、線維芽細胞などの歯周組織構成細胞が MSC の抗炎症作用や組織修復能力に与える影響は明らかではない。本研究では歯根膜線維芽細胞 (PDL-F) と MSC の相互作用を解明し、歯周炎症部位における MSC の役割を検討した。

### II. 研究方法

本研究では、我々が樹立したラット PDL-F (SCDC2) 及び GFP マウス骨髄由来 MSC 株の SG2 を使用した。SCDC2 を IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  で処理し、ケモカイン MCP-1 と SDF-1 $\alpha$  の発現を調査した。発現誘導が確認された MCP-1 については SG2 と SCDC2 における細胞遊走促進効果を検討した。さらに、SG2 と SCDC2 の接触共培養系と、Trans-well system を用いた非接触共培養系における SG2 の炎症関連因子の発現を調査するとともに、SCDC2 との共培養における SG2 の性状について MSC マーカーの発現、分化能、細胞増殖能、ならびに細胞遊走能について比較検討した。

### III. 研究成績

SCDC2 を IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  で処理したところ、MCP-1 の mRNA 発現及びタンパク分泌が促進した。MCP-1 は SG2 の細胞遊走能を促進する一方、SCDC2 の遊走能は促進しなかった。この SG2 における遊走促進は、MCP-1 中和抗体で解除された。また接触共培養系では、SG2 における抗炎症性サイトカイン IL-10 ならびに TGF- $\beta$  の発現が促進されたが、炎症性サイトカインの IL-6 の発現は抑制された。一方で非接触共培養系では、IL-6 の発現抑制及び IL-10、TGF- $\beta$  の発現促進は認められなかった。さらに共培養後の SG2 の性状においては、MSC マーカー Sca-1、CD44、CD90 の発現増強ならびに細胞遊走能・分化能が促進され、細胞増殖能は抑制された。

### IV. 考察及び結論

炎症性サイトカイン刺激によって PDL-F から分泌されたケモカイン MCP-1 は、MSC にパラクリンに作用することで炎症部位への遊走を促進する。また、炎症部位にホーミングした MSC は PDL-F との細胞間接着を介した相互作用により炎症性サイトカインの分泌を抑制し、抗炎症性サイトカインの分泌を促進する。さらに、この相互作用により MSC の遊走活性の促進ならびに細胞増殖能の抑制が認められ、また、骨芽細胞分化能が促進されることが明らかになった。すなわち、歯周組織炎症部位に集積した MSC は周囲の歯周組織構

成細胞と相互作用することで、抗炎症作用及び骨形成能力が増強されることが示された。これらの機能増強は、歯槽骨吸収を伴った歯周炎の治癒、すなわち炎症の終息ならびに歯槽骨再生に関与する可能性が示唆される。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 千葉 俊美 (口腔医学講座 関連医学分野)  
副査 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)

組織破壊を伴う炎症は、主に局所に浸潤したマクロファージから分泌される IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインによる過剰な炎症反応が要因とされている。歯周炎も例外ではなく、歯肉線維芽細胞への種々の炎症性サイトカインによる相乗的作用や細胞外マトリックス分解酵素の発現促進効果などが報告されている。一方、組織破壊を伴う炎症の治癒には結合組織構成細胞への分化能を有する間葉系幹細胞 (MSC) が関与する。MSC はケモカインの作用により炎症部位に集積し、抗炎症作用や組織修復に働く。しかしながら、線維芽細胞などの歯周組織構成細胞が MSC に与える影響は明らかではない。今回、鈴木らは歯根膜線維芽細胞 (PDL-F) と MSC の相互作用に着目し、歯周炎症部位における MSC の役割の解明を目的として研究を遂行した。

ラット PDL-F (SCDC2) は IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  刺激により、ケモカイン MCP-1 の mRNA 発現及びタンパク分泌が促進した。MCP-1 は GFP マウス骨髄由来 MSC (SG2) の細胞遊走能を促進する一方、SCDC2 の遊走能は促進しなかった。SG2 における遊走促進は、MCP-1 中和抗体で解除された。また接触共培養系では、SG2 における抗炎症性サイトカイン IL-10、TGF- $\beta$  の発現が促進されたが、炎症性サイトカイン IL-6 の発現は抑制された。一方で非接触共培養系では、IL-6 の発現抑制及び IL-10、TGF- $\beta$  の発現促進を認めなかった。さらに共培養後の SG2 の性状では、MSC マーカー Sca-1、CD44、CD90 の発現増強ならびに細胞遊走能・分化能が促進され、細胞増殖能は抑制された。

以上の結果から、炎症性サイトカイン刺激により PDL-F から分泌された MCP-1 は、MSC にパラクリンに作用し、炎症部位への遊走を促進する。また炎症部位に誘導された MSC は PDL-F との細胞間接着を介した相互作用により炎症性サイトカインの分泌を抑制し、抗炎症性サイトカインの分泌を促進する。さらに、この相互作用により MSC の遊走活性の促進ならびに細胞増殖能の抑制が認められ、また骨芽細胞分化能が促進されることが示唆された。すなわち歯周炎症部位に集積した MSC は PDL-F との相互作用により、抗炎症作用及び骨形成能力が増強されることが示された。これらの研究結果は、歯槽骨吸収を伴う歯周炎の治癒、すなわち臨床的に重要な炎症の終息ならびに歯槽骨再生に関与する可能性が示唆される。

## 試験・試問結果の要旨

本論文の概要について説明があり、重要な背景、研究方法、結果の解釈ならびにその臨床的意義、臨床応用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、今後期待される研究の展開についても具体的に触れ、積極的かつ真摯な態度で応答した。これからの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** なし