

## 論文審査結果報告書

論文提出者氏名 中川 愛加

学位論文題目：Effects of interferon- $\gamma$  on odontoblastic differentiation and mineralization of odontoblast-like cells

（象牙芽細胞様細胞中の DMP-1 発現に対するインターフェロン- $\gamma$ の影響）

審査委員	（主査）教授	竹内 弘	印
	（副査）教授	自見 英治郎	印
	（副査）教授	中島 啓介	印

### 論文審査結果の要旨

サイトカインは、細胞外環境の変化とともに象牙質形成の制御に深く関わっていることが広く知られている。これまで象牙質形成に関する研究が数多く報告されているなかで、初期および後期段階において象牙質マトリックスタンパク（DMP-1）が重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。中川愛加氏は、ラット切歯由来象牙芽細胞様細胞株 KN-3 細胞において、炎症性サイトカインが象牙質形成マーカーの一つである DMP-1 の発現に及ぼす影響について検討した。

本研究では KN-3 細胞に作用する炎症性サイトカインとして Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) と Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )を使用した。各サイトカインにより一定期間刺激後、KN-3 細胞における DMP-1 のタンパク質発現及び p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)、ERK、c-Jun のリン酸化についてウエスタンブロッティングにより解析を行った。また、KN-3 細胞の石灰化能に対する各サイトカインの影響については Alkaline Phosphatase (ALP) 活性測定および ALP 染色により検証した。

KN-3 細胞における DMP-1 発現は 3 日間の IFN- $\gamma$  刺激により濃度及び時間依存的に低下した。一方、IL-1 $\beta$  刺激群では DMP-1 発現の低下は認められなかった。IL-1 $\beta$  を IFN- $\gamma$  とともに加えると、DMP-1 発現は定常時の発現レベルに維持され IFN- $\gamma$  による発現レベルの低下は消失した。また、5 日間の IFN- $\gamma$  刺激によって ALP 活性は抑制されたが、IL-1 $\beta$  を IFN- $\gamma$  とともに加えると IFN- $\gamma$  による ALP 活性に対する抑制効果は消失した。更に IFN- $\gamma$  の 1 時間刺激で p38 MAPK のリン酸化が誘導され、IFN- $\gamma$  を添加して 3 日間刺激しても p38 MAPK のリン酸化は維持されていた。このとき ERK 及び c-Jun のリン酸化状態には変化を認めなかった。

象牙芽細胞様細胞である KN-3 細胞への IFN- $\gamma$  刺激群で DMP-1 発現と ALP 活性が抑制されたことから、IFN- $\gamma$  刺激は象牙質形成を阻害することが示唆された。このとき、MAPK 経路のなかでも ERK や JNK 経路ではなく、p38 MAPK の継続的なリン酸化が誘導されることを確認した。更にこれら IFN- $\gamma$  の KN-3 細胞に対する抑制効果は IL-1 $\beta$  の同時刺激により阻害されることが分かった。

IFN- $\gamma$  および IL-1 $\beta$  が象牙芽細胞による象牙質形成において拮抗的な反応を引き起こしていることを示した本研究結果は、生体内におけるサイトカインの複合的な作用機序を解明する上で有意義なものであると考える。

本研究内容に関して、申請者の中川愛加氏に対し、主査と 2 名の副査から、提示されたデータの質と解釈についてや、サイトカインの濃度・時間・複数併用する場合のタイミングと生体内における事象との対応等について質問したが、未呈示の予備実験結果を十分検討した上でなされた経緯など、概ね適切な回答を得た。総じて、審査委員会では本論文を学位論文として価値あるものと判断した。