

ふりがな氏名	おくだ まきこ 奥田 麻貴子
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 756 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 6 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Effects of High Glucose for Hard Tissue Formation on Type II Diabetes Model Rat Bone Marrow Cells in Vitro (II 型糖尿病モデルラット骨髄細胞の硬組織形成に及ぼす高濃度グルコースの影響)
学位論文掲載誌	Journal of Hard Tissue Biology 第 24 巻 第 1 号 平成 27 年 1 月
論文調査委員	主査 梅田 誠 教授 副査 田中 昭男 教授 副査 山本 一世 教授

### 論文内容要旨

糖尿病は、歯周病の主な病因およびリスクファクターの一つであり、双方向的影響を及ぼすペリオドンタルメディシンに関わる疾患である。また糖尿病による高血糖状態は細胞の増殖、分化および炎症性サイトカインの産生に影響を及ぼすと報告されているが、糖尿病罹患患者の歯周病治療の効果、とくに歯周再生治療の効果についての報告は少ない。今回、II 型糖尿病モデルラットである GK ラットの骨髄細胞（以下、GKrat BMMSC と略す）を高濃度グルコース状態で培養し、細胞の増殖能および硬組織誘導能に及ぼす影響を明らかにし、歯周組織破壊に深い関連がある炎症性サイトカイン IL-6, IL-1 $\beta$  の産生について比較検討した。8 週齢の GK 系雄性ラットの両側大腿骨から骨髄細胞を採取し、3 代目を実験に供した。増殖能について 4 種のグルコース濃度 (5.5 mM, 8.0 mM, 12.0 mM, 24.0 mM) に調整した培地で培養し検討した。硬組織分化誘導能は 10 mM  $\beta$ -グリセロリン酸ナトリウム, 82  $\mu$ g/mL アスコルビン酸および 10<sup>-8</sup> M デキサメタゾン含有の分化誘導培地をさらに 4 種のグルコース濃度で調整して骨髄細胞に応用し、Runx2 mRNA, Alkaline phosphatase (ALP) mRNA, Osteocalcin mRNA, Type I collagen mRNA の発現について検討した。石灰化物形成能はカルシウムの析出量を定量し, Alizarin red 染色により検討した。また、炎症性サイトカインは培養 7 日目の IL-6 mRNA と IL-1 $\beta$  mRNA の発現量で検討した。

細胞増殖能は培養 3 時間, 24 時間および 72 時間において生理的グルコース濃度である 5.5 mM に比べて他の 3 種の濃度の方が有意に高かった。硬組織分化誘導能については, ALP mRNA と Type I collagen mRNA の発現はグルコース濃度が高くなるにつれて有意に低くなるが, Runx2 mRNA と Osteocalcin mRNA は 24 mM の濃度では高くなる傾向を示した。石灰化物の析出は 12 mM までは低くなる傾向を示したが,

24 mM では有意に高い傾向を示した。炎症性サイトカインの産生能は、IL-6 では 12 mM までは高くなり 24 mM では低下する傾向を示したが、IL-1 $\beta$  ではグルコース濃度が高くなるにつれて有意に低下した。これらの結果より、高濃度のグルコースは GKrat BMMSC の細胞増殖を高め硬組織分化および石灰化を抑制し、高くなりすぎると促進するが、タイプ I コラーゲンの形成が弱いので微弱な硬組織形成であることが示唆された。また硬組織分化は歯周組織破壊に関わる炎症性サイトカインの産生、とくに IL-6 に依存していることが示唆された。

以上のことから、糖尿病による高血糖状態は歯周組織再生に重要な役割を果たす骨髄細胞の細胞増殖を促進し、硬組織分化および石灰化物形成を抑制することによって歯周組織の再生が阻害されることが示唆され、歯周組織破壊を促進する炎症性サイトカインが誘導されることで硬組織分化誘導を阻害する可能性が示唆された。

### 論文審査結果要旨

糖尿病は、歯周病の主な病因およびリスクファクターの一つであり、第 6 番目の合併症として報告されておりペリオメディシンに関わる疾患として多くの国民に認知されている。また糖尿病による高血糖状態は細胞の増殖、分化および炎症性サイトカインの産生に影響を及ぼすと報告されているが、糖尿病罹患患者の歯周病治療の効果についての報告は少ない。今回、II 型糖尿病モデルラットである GK ラットの骨髄細胞を 4 種の濃度の高濃度グルコース状態で培養し、細胞の増殖能および硬組織誘導能に及ぼす影響を明らかにし、歯周組織破壊に深い関連がある炎症性サイトカイン IL-6、IL-1 $\beta$  の産生について比較検討した。

細胞増殖能は培養 3 時間、24 時間および 72 時間において生理的グルコース濃度に比べて他の 3 種の高濃度の方が有意に高かった。硬組織分化誘導能については、ALP mRNA と Type 1 collagen mRNA の発現はグルコース濃度が高くなるにつれて有意に低くなるが、Runx2 mRNA と Osteocalcin mRNA は 24 mM の濃度では高くなる傾向を示した。石灰化物の析出は 12 mM までは低くなる傾向を示したが、24 mM では有意に高い傾向を示した。炎症性サイトカインの産生能は、IL-6 では 12 mM までは高くなり 24 mM では低下する傾向を示したが、IL-1 $\beta$  ではグルコース濃度が高くなるにつれて有意に低下した。

これらの結果より、高濃度のグルコースは GKrat BMMSC の細胞増殖を高め硬組織分化および石灰化を抑制し、高くなりすぎると促進するが、タイプ I コラーゲンの形成が弱いので微弱な硬組織形成であることが示唆された。また硬組織分化は歯周組織破壊に関わる炎症性サイトカインの産生とくに IL-6 に依存していることが示唆された。

以上のことから、糖尿病による高血糖状態は歯周組織再生に重要な役割を果たす骨髄細胞の細胞増殖を促進し、硬組織分化および石灰化物形成を抑制することによって歯周組織の再生が阻害されることが示唆され、歯周組織破壊を促進する炎症性サイトカインが誘導されることで硬組織分化誘導を阻害する可能性が示唆された。

糖尿病患者において将来行われる歯周組織再生療法への実施に向けてグルコース濃度が炎症類似状態を惹起することが示唆された点において、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。