

## 論文要旨

|  |   |
|--|---|
| 氏名   | 大塚 麻衣   |
| タイトル   | Ameloblastin upregulated inflammatory response through the induction of IL-1 $\beta$ in human macrophages |
| <b>論文の要旨</b> <p>【背景】アメロブラスチン (AMBN)はエナメルマトリクスタンパクの一つであり、歯の形成に重要な役割を担うことが知られている。近年の研究から、AMBN が歯髄炎の治癒促進や骨折の治癒促進など多彩な生理学的機能をもつ可能性が明らかになってきた。今回、我々は、Lipopolysaccharide (LPS) 刺激したヒトマクロファージ様細胞における炎症性サイトカイン Interleukin-1<math>\beta</math> (IL-1<math>\beta</math>)産生に対する AMBN の影響について検証した。</p> <p>【材料と方法】 phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA)処理によりマクロファージ様細胞へ分化誘導したヒト単球様細胞株 (U937 細胞) を、<i>Escherichia coli</i> 由来 LPS とリコンビナントヒト AMBN (rhAMBN)で刺激し、real time RT-PCR 法を用いて IL-1<math>\beta</math> 遺伝子発現を解析した。各タンパク発現に関しては、Western blot 法と ELISA 法を用いて解析を行った。また、TLR4 と MyD88 の会合に与える AMBN の影響を、Co-immunoprecipitation 法を用いて検証した。</p> <p>【結果】LPS 刺激 U937 細胞において、IL-1<math>\beta</math> の遺伝子発現が上昇した。rhAMBN 単独刺激では IL-1<math>\beta</math> の遺伝子発現に影響は認められなかったが、LPS と rhAMBN の同時刺激により、IL-1<math>\beta</math> の遺伝子発現は顕著に増強した。Western blot の結果から、LPS と rhAMBN の同時刺激により、成熟型の mature IL-1<math>\beta</math> の発現と活性化型 caspase-1 p10 の発現が上昇し、さらに、ELISA の結果から、細胞上清中の IL-1<math>\beta</math> 産生量が有意に増加することが明らかになった。また、caspase-1 阻害剤により、rhAMBN による IL-1<math>\beta</math> の発現増強作用は抑制された。Co-immunoprecipitation において、LPS と rhAMBN 同時刺激による TLR4/MyD88 の会合は亢進していたが、LPS 刺激と比較して明瞭な差は認められなかった。細胞内シグナルにおいて、LPS 刺激後 0.5 h で ERK1/2 のリン酸化が上昇した。これに対し、LPS と rhAMBN の同時刺激により、ERK1/2 のリン酸化が 4 h まで持続した。そこで、ERK1/2 阻害剤を使用すると、LPS と rhAMBN の同時刺激による IL-1<math>\beta</math> のタンパク発現は抑制された。</p> <p>【考察】マクロファージにおける mature IL-1<math>\beta</math> の産生には、LPS 誘導性 IL-1<math>\beta</math> precursor の発現とそれに続く caspase-1 によるプロセッシングという 2 段階のステップが必要であることが知られている。今回、我々は、rhAMBN が LPS 誘導性 IL-1<math>\beta</math> の遺伝子発現を増強するとともに、活性化型 caspase-1 p10 の発現と mature IL-1<math>\beta</math> の発現・細胞外分泌を増強し、LPS 下流にある ERK1/2 のリン酸化を長期化することを明らかにした。さらに、ERK1/2 阻害剤および caspase-1 阻害剤により、rhAMBN による IL-1<math>\beta</math> の増強作用は抑制されることが明らかになった。以上の結果より、rhAMBN がマクロファージにおいて、ERK1/2 の長期リン酸化と caspase-1 の活性化を介して、LPS 誘導性 IL-1<math>\beta</math> の産生を促進したが、このことは AMBN が、炎症応答を増強する生理学的機能をもつ可能性を示唆している。</p> |   |