

論 文 内 容 要 旨

題 目

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) Induces VEGF Expression and Production in Rat Odontoblastic Cells

(カフェイン酸フェネチルエステル(CAPE)がラット象牙芽細胞様細胞のVEGF発現と産生に与える影響)

著 者

蔵本 瞳

内容要旨

【目的】

齲蝕をはじめとした様々な刺激が原因となり、歯髄組織が侵襲されると歯髄炎が惹起される。齲蝕が進行し、歯髄組織に細菌感染が成立すると不可逆性歯髄炎と診断され、抜髄を余儀なくされる。抜髄後の無髄歯の予後は歯根破折のリスクが高くなり、有髄歯と比較して悪いとされており、歯髄保存の観点から新規歯髄保護療法の開発が望まれている。近年、ポリフェノールの一種でプロポリス生理活性物質である Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) に抗炎症作用があることが報告されている。我々はこれまでに、CAPE がラット象牙芽細胞様細胞株 (KN-3)において NOD1 特異的リガンド (iE-DAP)刺激により誘導されるケモカイン産生を抑制することを明らかとしている。VEGF (Vascular endothelial growth factor)は血管新生に関わる増殖因子であり、歯髄組織にも発現しており、歯髄幹細胞の活性化や象牙芽細胞への分化、修復象牙質の形成に関与するという報告もある。今回我々は、新規歯髄保護療法の開発を目的とし、ポリフェノール類ならびに VEGF に着目し研究を行った。

【方法】

ラット象牙芽細胞様細胞株 (KN-3: 九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与)を、非石灰化培地 (10% FBS 添加 α -MEM 培地)にてサブコンフルエントまで培養後、ポリフェノール類 (Caffeic acid, CAPE, EGCG) で処理したのち、real-time PCR 法と ELISA 法を用いて VEGF の発現と蛋白産生量を解析した。さらに、石灰化誘導培地 (2% FBS、10 mM β -glycerophosphate ならびに 50 μ g/ml アスコルビン酸を添加した α -MEM 培地)でも同様に解析を行った。また、各種シグナル阻害剤と共に CAPE で 24 時間処理後、ELISA 法にて上清中の VEGF 産生量を定量した。さらに、GFP レポーターシステム (QIAGEN)を用いて、NF- κ B の転写因子活性を測定した。また、VEGF 受容体の mRNA 発現についても解析した。加えて、VEGF を添加した石灰化誘導培地にて KN-3 細胞を培養し、アルカリフォスファターゼ (ALP)活性の測定ならびにアリザリンレッド染色を行った。

【結果】

KN-3 細胞において、非石灰化培地と石灰化誘導培地のどちらの培養条件でも CAPE 処

理群においてのみ有意な VEGF の mRNA 発現と蛋白産生誘導が認められた。加えて、CAPE 処理により NF- κ B の転写因子活性は増強され、VEGF 産生は、NF- κ B 阻害剤添加により有意に減少した。さらに CAPE は、VEGF 受容体である VEGFR-2 の mRNA 発現を増強した。また、VEGF 添加石灰化誘導培地において、培養開始 17 日目で、VEGF 処理群における ALP 活性は有意に上昇し、アリザリンレッド染色においても同様に強い染色が認められた。

【結論】

抗炎症作用を有する CAPE が KN-3 細胞において VEGF の発現と産生を誘導することが明らかとなった。CAPE を覆髄材として臨床応用することで、従来の覆髄材が有していなかった抗炎症効果や、CAPE により誘導された VEGF を介した生理的な象牙芽細胞の活性化と石灰化誘導が期待できると考えられ、本研究は、新規歯髄保護療法の新たな可能性を示唆するものである。