

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙 第 号	論文提出者名	石田 直之
論文審査 委員氏名	主査 三谷 章雄 副査 戸苺 彰史 福田 理		
論文題名	アルツハイマー病と歯周病との関連性に関する研究		

インターネットの利用による公表用

アルツハイマー病は現在世界中で約2700万人が罹患している疾患であり、記憶(特に近時記憶)、学習・判断・コミュニケーション能力が徐々に破壊されていくことが特徴である。これまでの研究で、アミロイドβ(Aβ)と呼ばれるタンパク質が脳組織に沈着する慢性の炎症性疾患であることが判明している。

近年、アルツハイマー病と歯周病との関連性を示唆する報告が散見されてきているが、歯周病がアルツハイマー病に影響を及ぼすメカニズムについては全く明らかにされていない。

今回、歯周病がアルツハイマー病の病態に与える影響とそのメカニズムを明らかにすることを目的に、アルツハイマー病モデルマウスの口腔内に *Porphyromonas gingivalis* を投与して実験的歯周炎を惹起し、同マウスの認知機能や脳内のアルツハイマー病病態への影響を検討した。

実験動物にはヒトアミロイド前駆タンパク質(APP)を発現するトランスジェニックアルツハイマー病モデルマウス(APP-Tg マウス)を用いた。雌APP-Tg マウスを62週齢まで加齢させ、同マウスの口腔内に2.5%カルボキシメチルセルロース溶液を用いて調製した *P. gingivalis* (ATCC 33277株)菌体浮遊液を経口投与した。その後、APP-Tg マウスの認知機能を評価するために記憶学習試験の一つである新奇物体認識試験を行った。APP-Tg マウスの下顎骨の形態学的観察・吸収率の計測はMicro Computer Tomographyを使用し、下顎第二臼歯を舌側から観察した。APP-Tg マウスの右脳は厚さ5μm

の連続切片とし、免疫染色を行い A β が沈着している面積を測定した。左脳はホモジネートし、得られたライセートに含まれる A β 40、A β 42、TNF- α 、および IL-1 β の産生レベルを ELISA 法で解析した。APP-Tg マウスの血清と脳ライセートに含まれるエンドトキシン量はエンドスペシー ES-50M セットを用いて測定した。 *P. gingivalis* を口腔内に投与した野生型 63 週齢雌 C57BL/6 マウスの血清を採取し、腸内皮細胞間のタイトジャンクション機能の維持に關与する Zonulin タンパク質を ELISA 法を用いて定量した。10 μ M Amyloid β -Protein (Human、1-42)を6時間前処理した株化ミクログリア 6-3 細胞培養系に *P. gingivalis* 由来リポ多糖 (Lipopolysaccharide; LPS)を添加し、更に24時間培養した後、培養上清中の TNF- α 、IL-1 β 量を ELISA 法により定量した。野生型 C57BL/6 仔マウスの脳より神経細胞を分離、培養した後、*P. gingivalis* 由来 LPS を添加してさらに24時間培養した。その後、同培養上清中に放出された A β 40、A β 42 量を ELISA 法により定量した。

P. gingivalis を口腔内投与した APP-Tg マウスの歯槽骨変化を観察した結果、非投与群と比較して歯槽骨吸収率が有意に増加していた。認知機能評価の結果、*P. gingivalis* 非投与群に比べ、投与群において有意に認知機能が低下していた。APP-Tg マウス脳の A β 沈着面積を免疫染色法で解析した結果、海馬における A β の沈着面積は *P. gingivalis* 非投与群と比較して *P. gingivalis* 投与群で有意に増加した。APP-Tg マウスにおける海馬および皮質の A β 沈着量を定量した結果、*P. gingivalis* 投与群において A β 40 と A β 42

沈着量の有意な増加が見られた。APP-Tg マウスの脳における IL-1 β 、TNF- α 量を定量した結果、IL-1 β 、TNF- α 産生量が共に *P. gingivalis* 投与群で有意に増加した。APP-Tg マウスの脳と血清中におけるエンドトキシン量を定量した結果、*P. gingivalis* 投与群で有意に増加した。野生型加齢マウスの血清 Zonulin 量を測定した結果、*P. gingivalis* 投与群において Zonulin 濃度の増加が認められた。A β 42 と *P. gingivalis* 由来 LPS をマイクログリア培養系に添加した結果、両物質を同時添加することによって、それぞれを単独投与した場合と比べて TNF- α 、IL-1 β の発現量が著しく増加した。マウス脳神経細胞培養系に *P. gingivalis* 由来 LPS を添加した時、A β 40、A β 42 の産生が有意に増加した。

本研究の結果から、A β が沈着している脳内に LPS が移行したことによって、マイクログリアの過剰な活性化や、神経細胞からの A β 40、A β 42 の産生増加が起こった結果、神経細胞障害が進行し、最終的に認知機能障害が増悪した可能性があると考えられる。

以上より、本研究は歯科保存学、小児歯科学、歯科薬理学をはじめとする関連諸学科に寄与するところが多い。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。