

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	岡田康佑
論文審査 委員氏名	主査	三谷 章雄	副査	千田 彰 前田 初彦
論文題名	歯周病病態における Th17 細胞に対する IL-35 の役割についての基礎的検討			

インターネットの利用による公表用

主にヘルパーT (Th) 17 細胞から産生されるインターロイキン (IL) -17 は、歯周病における炎症反応と歯槽骨破壊に強く関与することが知られている。

また、Th17 細胞の転写因子としては、核内受容体スーパーファミリーに属しているレチノイン酸受容体関連オーファン受容体 (ROR) が知られている。さらに ROR には、ROR α 、ROR β 、ROR γ t の3つのサブタイプがあり、それぞれのコードする遺伝子は、*RORA*、*RORB*、*RORC* となっている。また、ROR γ t 欠損マウスを用いた *in vitro* および *in vivo* の研究において Th17 細胞への分化が減少したことが報告されている。ROR γ t 欠損マウスでは、Th17 細胞への分化が完全に抑制されなかったが、ROR γ t と ROR α の両方を欠損したマウスにおいては、Th17 細胞への分化が完全に抑制され、ROR α も Th17 細胞への分化を制御している重要な分子であることが示唆されている。

一方、制御性 T (Treg) 細胞から産生される新規の抗炎症性サイトカインである IL-35 は、Th17 細胞への分化を制御する報告がある。また、これまでの研究で、歯周病患者における歯肉溝滲出液中の IL-35 濃度が健常者と比較し増加していること、さらに、IL-17 濃度に対して負の相関傾向にあることを報告してきた。このことから、IL-35 が歯周病病態における過剰な炎症反応を抑制する可能性が示唆されるが、そのメカニズムは、未だ明らかとなっていない。

そこで、本研究では、歯周病病態における IL-35 の役割を明らかにする

ための基礎的研究として、Th17 細胞への分化および、IL-17 産生に対する IL-35 の直接的な影響を検討した。

まず、申請者は、健常者および、歯周病患者の採血を行い、末梢血中の Th17、Th1、Treg 細胞の割合を解析した。なお、本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認のもとに行った（承認番号：390）。その結果、末梢血中の Th17、Th1、Treg 細胞の割合は、歯周病患者において、Th17 細胞の割合が健常者と比較し約 1.4 倍の上昇を認めたものの、どの T 細胞サブセットにおいても歯周病患者群と健常者群の間に有意な差は認められなかった。

次に、Th17 細胞への分化誘導法について、CD4⁺T 細胞に、サイトカインカクテル（リコンビナント (r) transforming growth factor - β 、rIL-6、rIL-1 β 、抗インターフェロン- γ 抗体、抗 IL-2 抗体、抗 IL-4 抗体) を用いる方法と、rIL-23 単独で行う方法の 2 種類が報告されている。そこで、両者の Th17 細胞への分化を比較するため、*RORA*、*RORC* の遺伝子発現について解析を行ったところ、*RORA*、*RORC* どちらの mRNA 発現も、サイトカインカクテルを用いた群でのみ、有意な増加を認めた。従って、これ以降の実験は、サイトカインカクテルによる Th17 細胞分化誘導法を用いた。

さらに、Th17 細胞に対する IL-35 の直接的な影響を検討するため、Th17 細胞分化誘導後に rIL-35 を添加し、*IL17A*、*RORA*、*RORC* の遺伝子発現および IL-17A のタンパク産生量を解析した。その結果、*IL17A* および *RORA* mRNA

発現は、Th17 細胞分化誘導により、コントロール群と比較し有意に増加し、rIL-35 添加により有意な減少が認められた。一方、*RORC* mRNA 発現は、同様の傾向が認められたものの、Th17 細胞分化誘導および、rIL-35 添加による有意な変化は認められなかった。また、IL-17A タンパク産生量は、*IL17A* mRNA 発現の結果と同様に、Th17 細胞分化誘導によって、コントロール群と比較し有意に増加し、rIL-35 添加により有意なタンパク量の減少が認められた。

このことから、IL-35 は、Th17 細胞の転写因子の 1 つである $ROR\alpha$ を特異的に抑制することにより、直接的に Th17 細胞の分化および、IL-17 産生を抑制し、歯周病病態の過剰な炎症反応を制御する可能性が示唆された。

以上より、本論文は歯周病学および関連諸学科に寄与し、博士（歯学）の学位授与に値するものと判定した。