

# 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	高柳 結平
論文審査 委員氏名	主査 三谷 章雄  副査 後藤 滋巳  本田 雅規		
論文題名	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 由来 Mfa1 線毛 マウス歯肉線維芽細胞に対する免疫調節能お よび代謝調節能に関する研究		

インターネットの利用による公表用

(論文審査の要旨)

No. ....1.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

歯周炎は歯周病原細菌による慢性炎症性疾患であり、複数の細菌が原因となっている。その中で、*P. gingivalis*(*P. g.*)は主要な病原体である。*P. g.*は、lipopolysaccharides (LPS)、gingipines、fimbriae (線毛)を含む多くの病原性因子を保有あるいは分泌する。

*P. g.*の表面にある線維状構造物である線毛は、他の細菌や宿主組織との結合により、コロニー化に重要な役割を果たす。*P. g.* ATCC 33277株は、FimA線毛とMfa1線毛の2種類の線毛を有している。Mfa1線毛はサブユニットタンパク質であり、主要なMfa1タンパク質に加えて、関連するMfa2-5タンパク質も存在する。Mfa2はアンカーの役割を果たし、Mfa3は*in vitro*でMfa1/2/4/5と結合し、結合タンパク質として他の線毛のサブユニットと結合する。これまでの研究で、FimA線毛とMfa1線毛では、役割が異なることが示されている。FimA線毛は歯周組織でのコロニー化と宿主細胞への侵入を媒介する主要な接着因子であり、様々な経路で歯周組織の炎症を誘導する。一方、Mfa1線毛欠損株を用いた経口感染歯周炎モデルでは、歯槽骨吸収をほとんど起こさないことが示されているものの、Mfa1線毛を用いた宿主免疫応答に関する研究報告はほとんどない。

本研究の目的は、*P. g.* Mfa1線毛刺激がマウス歯肉線維芽細胞(MGF)の免疫・代謝機構に及ぼす影響を検討することである。

まず申請者は、Mfa1線毛をHasegawaらの報告に従い精製し、JI-1として実験に使用した。また、Mfa5がermF-Bによって破壊されたMfa5変異体

(FMFA5) 株および遺伝子相補体 (FMFA5C) 株からも同様に線毛を精製し、それぞれ FMFA5 および FMFA5C として実験に使用した。

次に MGF 細胞は、マウスの口蓋歯肉組織から採取し、細胞がコンフルエントに達した時点で、*P. g.* の各種線毛 (JI-1、FMFA5、FMFA5C、FimA) および LPS の存在下 (各刺激濃度 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) または非存在下で 2 時間培養した後、各実験に用いた。

本研究で歯肉結合組織を構成する MGF 細胞に対する Mfa1 線毛の影響を調べたところ、好中球走化性因子である Cxcl1, Cxcl3 および炎症性サイトカインである IL-6 の mRNA 発現について JI-1 由来 Mfa1 線毛刺激の方が FimA 線毛刺激よりも強く亢進していた。これらのことから、Mfa1 線毛の免疫調節能は、FimA 線毛の免疫調節能を一部上回っている可能性が考えられる。

次に、Mfa1 線毛の免疫調節能は線毛構造のどの部分が重要なのかを調べるために、JI-1 の先端 Mfa3-5 構造を除去した FMFA5 と、先端 Mfa3-5 構造を補完した FMFA5C を併せて用いて、免疫調節の誘導能を比較した。その結果、JI-1 と比較して FMFA5 では Cxcl1, Cxcl3, IL-6 の mRNA 発現が著しく上昇し、FMFA5C では有意に減弱していた。さらに細胞接着因子である Icam1、Sele も同様の結果が得られた。これらの結果から、Mfa1 線毛による免疫調節能および細胞接着因子の制御は、シャフト部分の Mfa1 分子に大きく影響される可能性が示唆された。

本研究において、各種線毛またはLPSで刺激したMGF細胞におけるTLR2とTLR4遺伝子の発現を調べたところ、TLR2はCxcl1など今回検討した他の遺伝子発現と同様の発現変動パターンを示したが、TLR4は各種線毛やLPSに対して有意な遺伝子発現変動を示さなかった。さらに、TLR2またはTLR4をノックダウンしたMGF細胞を用いた検討では、Mfa1線毛によるCxcl1、Cxcl3、Icam1、Sele mRNA発現亢進が、TLR4をノックダウンするとほぼ消失していた。また、TLR2をノックダウンした場合も、これらの発現亢進は部分的に減衰していた。このことから、Mfa1線毛による細胞遊走や細胞接着に関連する遺伝子の発現には、TLR4による認識が必須であることが示唆された。

以上より、本論文は歯科保存学、歯科矯正学、口腔解剖学をはじめとする関連諸学科に寄与するところが大きい。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。