

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	鈴木祐希
論文審査 委員氏名	主査		三谷 章雄	
	副査		嶋崎 義浩	
			本田 雅規	
論文題名	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 線毛は RAW264 細胞において To11 様受容体を介して破骨細胞形成を誘導する			

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 Red complex と呼ばれる 3 種の細菌 (*Porphyromonas gingivalis*(*P. g.*), *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) を主な原因とする慢性炎症性疾患である。その中でも *P. g.* は歯周病原細菌として特に重要であると考えられ、病原因子に線毛、リポ多糖、ジンジパインが挙げられる。*P. g.* は長線毛 (FimA) と短線毛 (Mfa1) の 2 種類の線毛を保有し、これらは細菌表面から突出したタンパク質性の糸状付属物であり、宿主組織への付着、バイオフィルム形成、連鎖球菌や樹状細胞との共凝集に重要な役割を果たす。FimA 線毛はマクロファージ、歯肉上皮細胞、歯肉線維芽細胞を刺激し、IL-1、TNF- α 、IL-6 などの炎症性サイトカインを産生し破骨細胞の分化、歯槽骨吸収を促進する。*P. g.* ATCC 33277 (野生型) はラットの歯槽骨吸収を誘導するが、*mfa1* 欠損株は *fimA* 欠損株よりも骨吸収量が少ない。このことから、Mfa1 線毛は FimA 線毛より歯槽骨吸収誘導能が強力であることが示唆される。さらに、FimA 線毛と Mfa1 線毛の二重欠損株は、宿主細胞への接着能力を完全に喪失している。これより、FimA 線毛と Mfa1 線毛の両方が *P. g.* の病原性に重要であると考えられるが、FimA 線毛と比較して Mfa1 線毛の歯槽骨吸収に関する役割は不明な点が多い。病原体に対する宿主の自然免疫応答は、主に Toll-Like Receptor (TLR) によって媒介され、TLR2 と TLR4 は、様々な病原体関連分子パターンを認識する細胞外自然免疫受容体として最も広く研究されており、歯周病の病因と密接に関連している。本研究では、*P. g.* Mfa1 線毛が破骨細胞の分化・活性化に及ぼ

す影響を検討し、TLR2 および TLR4 のノックダウンが線毛刺激後の破骨細胞分化に与える影響についても検討した。マウスマクロファージ細胞株である RAW264 細胞を実験に使用した。FimA 線毛は Yoshimura らの報告、Mfa1 線毛は Hasegawa らの報告にそれぞれ従い精製後、実験に使用した。RAW264 細胞を RANKL 前刺激し、*P. g.* の Mfa1 線毛、FimA 線毛または RANKL 刺激下で培養後、各種検討を行った。線毛刺激による RANKL 誘導性破骨細胞分化、活性化に与える影響を調べたところ、Mfa1 線毛は FimA 線毛と比較して分化誘導能が有意に高く、活性化能に関しては Mfa1 線毛がより効果的であった。次に破骨細胞分化マーカー発現を検討したところ、Mfa1 線毛は *Acp5*、*Mmp9*、*Ctsk* の遺伝子発現を有意に増加させた。TLR2、TLR4 の発現に影響を与えるか調べたところ、RANKL 誘導性破骨細胞において Mfa1 線毛、FimA 線毛ともに *Tlr2*、*Tlr4* の遺伝子発現を有意に増加させた。さらに、TLR2 または TLR4 をノックダウンした RAW264 細胞を用いた検討では、Mfa1 線毛、FimA 線毛による破骨細胞分化と *Acp5*、*Mmp9*、*Ctsk* の遺伝子発現が抑制された。このことから Mfa1 線毛、FimA 線毛は TLR2、TLR4 による認識を通じて破骨細胞分化を誘導することが明らかとなった。

以上のことより、*P. g.* Mfa1 線毛および FimA 線毛は TLRs を介して RANKL 誘導性破骨細胞分化と活性化を促進することを明らかにした。特に Mfa1 線毛の破骨細胞分化に対する作用は FimA 線毛よりも強いようであった。Mfa1 線毛は間質細胞と骨髄細胞の共培養下で破骨細胞の活性化を促進する報告が

(論文審査の要旨)

No.3.....

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

ある。また、破骨細胞の分化・活性化に対する FimA の直接的な作用は、我々の知る限りでは報告されていない。したがって、Mfa1 線毛および FimA 線毛の破骨細胞形成に対する直接的な作用に関する報告は、今回が初めてとなる。

以上より、本研究は歯科保存学、口腔衛生学、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。