

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 | 岩瀬 智彦 |
|--------------|--|--------|-------|
| 論文審査 委員氏名 | 主査 鈴木 崇弘 副査 三谷 章雄 長谷川 義明 | | |
| 論文題名 | 歯周病原細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> を 用いたマウス誤嚥性肺炎モデルによる病原性 の検討：線毛遺伝子型の異なる菌株での比較 | | |

インターネットの利用による公表用

慢性歯周炎は歯周ポケット内に付着した歯肉縁下プラークが主要な原因となる。本疾患は、デンタルプラーク中の口腔常在細菌叢の病的な変化、すなわち dysbiosis が原因となると考えられている。歯周病原細菌 *P. gingivalis* は、自然免疫を攪乱することにより歯肉縁下プラークの dysbiosis を引き起こすキーストーン病原体とみなされ近年注目されている。また、本菌は早産や糖尿病、誤嚥性肺炎といった全身疾患との関連が指摘されている。*P. gingivalis* は、FimA 線毛と Mfa1 線毛の 2 種類の線毛をもつ。FimA 線毛は I ~ V 型、Mfa1 は *mfa1*⁵³ 型、*mfa1*^{70A} 型、および *mfa1*^{70B} 型に分類され、*fimA* II 型および IV 型を保有する株が重度歯周炎患者から分離されやすいこと、*fimA* I 型は健常者や軽度の歯周病患者から多く分離されることが報告されている。しかし、*mfa1* 型と歯周炎の病原性との関連は不明である。

これまでの研究において誤嚥性肺炎の動物モデルには経鼻腔感染や喉頭切開による手法が報告されているが、従来のモデルにはマウスへの侵襲性が高い点や正確な菌数の投与が担保できないといった問題点があった。従って、本研究の目的は *P. gingivalis* を用いた新たなマウス誤嚥性肺炎モデルを開発するとともに、そのモデルを用いることにより異なる *fimA* および *mfa1* 型をもつ菌株の病原性を比較することとしている。

本研究では、新規のマウス誤嚥性モデルとして、雌性 C57BL/6J マウスの喉頭展開を行い、気管にサーフローを挿入することで経気道的に *P.*

gingivalis 菌液を投与することを試みている。使用した *P. gingivalis* 株としては、標準株として汎用される ATCC 33277 株 (*fimA*I 型、*mfal*^{70A} 型) および 1439 株 (*fimA*II 型、*mfal*^{70B} 型) である。

この動物モデルを用いて以下の方法により解析を行っている。

感染後 1 週間の生存率を Kaplan-Meier 法により評価した。また、感染 1 日後に回収した肺に含まれる生菌数、肺と血清の炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6) の産生量の測定、および、肺の病理組織学的解析を実施した。さらに、得られた組織切片を使用し、実質と間質の比率による含気率を計測した。

1439 株の FimA 線毛が炎症性サイトカインの産生に影響している可能性が考えられたため、全菌体抽出液中の FimA タンパク質発現の解析も実施した。

これらの研究方法により、以下の結果が得られている。

- ① 生存率の解析では、コントロール群ではすべての個体が生存していたのに対して、33277 感染群および 1439 感染群では 1 日後から死亡個体が認められた。生存率は 33277 感染群と比較して 1439 感染群で低下した。
- ② 肺組織における 1439 感染群の肺組織 1 g あたりの生菌数は、33277 感染群と比べて有意に高く、平均値は約 10 倍高かった。
- ③ 肺胞洗浄液における炎症性サイトカイン産生量においては、コントロール群では TNF- α 、IL-1 β 、および IL-6 はほとんど検出されなかったが、33277 感染群および 1439 感染群で上昇が認められた。特に、TNF- α の産

生量は、1439 感染群では 33277 感染群 に比べて有意に増加した。一方、血清ではどの群においても炎症性サイトカインの産生量は検出限界以下であった。

- ④ 肺組織における病理組織学的所見においては、33277 感染群および 1439 感染群では、間質の肥厚、出血および炎症性細胞の浸潤などの炎症所見が認められたが、コントロール群ではそれらの所見は認められなかった。
- ⑤ 含気率の計測では、コントロール群と比較して 33277 感染群および 1439 感染群では有意に低下した。
- ⑥ 43-kDa FimA タンパク質は、1439 株では検出されなかった。

以上の結果から、以下のように結論している。

P. gingivalis を口腔から経気道的に肺に感染させる新しい誤嚥性肺炎モデルを開発した。さらに、本動物モデルを使用することにより、*P. gingivalis* 感染群において炎症が亢進していることが明らかになり、*mfa1^{70B}* 型を持つ 1439 株の方がより病原性が高いことが考えられた。また、1439 株により惹起された肺組織での炎症には、FimA 線毛は関与しない可能性が示された。

以上、この研究は口腔微生物学のみならず生化学、歯周病学ならびに関連諸分野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。