

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	伊澤 有郎
論文審査 委員氏名	主査 副査	野口 俊英 金森 孝雄 戸蒔 彰史	
<p style="text-align: center;"><i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> 感染</p> <p>論文題名 IL-1Ra 欠損マウスの実験的歯周炎における組 織破壊亢進に関する研究</p>			

インターネットの利用による公表用

IL-1Ra は IL-1 レセプターに結合し、IL-1 α や IL-1 β の IL-1 レセプターへの結合を阻害することにより、IL-1 の活性を調節し、IL-1 のインヒビターとして働くりガンドとして知られている。Mizutani らは IL-1Ra 欠損 (KO) マウス腹腔マクロファージ (M ϕ) を *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a.*) LPS で刺激したところ、培養上清中の TNF や IL-6 の産生は野生型 (WT) マウスに比べて増加し、IL-1Ra は IL-1 以外の炎症性サイトカイン産生も間接的に制御していること、および IL-1Ra は PGE₂ とその受容体である EP4 産生を介して骨髄細胞の破骨細胞分化を制御していることを明らかにした。しかし実験的歯周炎モデルにおいて IL-1Ra が病態に与える影響についての検討は行われていない。

そこで、本研究では IL-1Ra KO マウスに *A.a.* 感染による実験的歯周炎を惹起させ、WT マウスと比較することにより、IL-1Ra が歯周病の発症と進行に与える影響を検討することとした。また IL-1Ra の破骨細胞分化および骨形成に関与する骨関連遺伝子発現への影響、さらには石灰化能について IL-1Ra KO マウスから採取した骨芽細胞を用い WT マウスと比較検討することとした。

IL-1Ra KO マウスと WT マウスの口腔内に *A.a.* 菌体浮遊液を 1 日おきに 5 回経口投与し、菌体浮遊液投与終了 45 日後に血清ならびに下顎骨を採取した。各群の血清から *A.a.* に対する血清抗体価を ELISA 法にて測定した。下顎骨の形態学的解析はマイクロ CT を使用した。下顎骨の組織学的解析には

hematoxylin-eosin (H-E) 染色と酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行った。骨芽細胞培養から発現される炎症性サイトカイン、破骨細胞分化関連遺伝子および骨形成に関与する遺伝子発現を real-time quantitative PCR (qPCR) 法にて測定を行った。

その結果、以下の結論が得られた。

*A.a.*感染 IL-1Ra KO マウス血清抗体価は WT マウスと比較して有意に高い値を示した。マイクロ CT による *A.a.*感染 IL-1Ra KO マウスの歯槽骨の変化としては WT マウスと比較して下顎第二臼歯の近遠心接触点下部の槽間中隔と根分岐部における明らかな歯槽骨の吸収であった。H-E 染色および TRAP 染色による比較では *A.a.*感染 IL-1Ra KO マウスは WT マウスと比較して接合上皮と歯肉固有層に炎症性細胞浸潤と付着の喪失および多くの TRAP 陽性細胞を認めた。IL-1Ra KO マウス由来骨芽細胞は WT マウス由来骨芽細胞と比較して RANKL、M-CSF、TNF α 、および IL-6 mRNA の有意な発現増加を認めた。骨形成に関与する骨関連遺伝子発現比較では IL-1Ra KO マウス由来骨芽細胞は WT マウス由来骨芽細胞と比較して Runx2、BSP、OCN および ALP mRNA の発現低下を認め、IL-1 α mRNA 発現は上昇を認めた。

これらの結果から以下の知見が得られた。

IL-1Ra KO マウスの実験的歯周炎が WT マウスと比べ進行していたこと

から、炎症性骨吸収を制御する骨芽細胞からの炎症性サイトカイン mRNA 発現を両マウスの間で比較検討を行ったところ、TNF α 、IL-6 の有意な発現の増加を認めた。TNF α トランスジェニックマウス血清中には IL-1 や IL-6 が高濃度に産生されることから、IL-1、IL-6、および TNF α は互いに細胞内の NF κ -B を活性化させ、細胞内における IL-1、TNF α 、IL-6 mRNA の転写を活性化するのではないかと考えられた。

今回、IL-1Ra KO マウスにおいて RANKL と M-CSF 発現の有意な増加を認めたが破骨細胞分化に対して抑制的に働く OPG は IL-1Ra によりその発現が変化しなかったことから IL-1Ra KO マウスでは骨代謝が骨吸収に傾いていると思われた。また、ラット由来骨芽細胞からの ALP 活性と石灰化抑制に IL-1 α の有意な発現増加が関与していたという報告と同様に、本研究における IL-1 α の有意な発現増加が ALP、OCN、BSP、Runx2 の発現抑制に働き、骨芽細胞の石灰化が認められなかったのではないかと考えられた。

以上の結果から IL-1RaKO マウスでは炎症性サイトカイン産生の上昇に伴い、破骨細胞分化関連遺伝子発現増加と骨形成関連遺伝子発現抑制が生じ実験的歯周炎の病態悪化が誘導されたと考えられた。今回の結果から IL-1Ra は歯周組織局所での歯周炎マーカーや歯周病治療薬として利用できる可能性があることが強く示唆された貴重なデータであり、本論文は歯科保存学、口腔生化学、歯科薬理学及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。