

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	岡部 徹平
論文審査 委員氏名	主査 副査	三谷 章雄 戸蒔 彰史 野本 周嗣 長谷川 義明	
論文題名	<i>Porphyromonas gingivalis</i> の菌体成分／分泌物 の <i>Streptococcus pneumoniae</i> 感染マウス肺炎に 及ぼす影響の検討		

インターネットの利用による公表用

肺炎は、一般的な感染症であり、特に高齢者において主要な死亡原因となっている。細菌性肺炎の主な原因は、グラム陽性通性嫌気性双球菌である *Streptococcus pneumoniae* である。高齢者の肺炎に医療・介護関連肺炎 (NHCAP) という概念が提唱されており、NHCAP の主原因である誤嚥性肺炎 (AP) は口腔咽頭にコロニー形成している細菌が誤嚥により肺に侵入することで発症するとされている。

また、*S. pneumoniae* とともに起因菌と考えられているのが歯周病原細菌である。この中で、*Porphyromonas gingivalis* は歯周炎におけるキーストーン細菌であると考えられ、AP においてもキーストーン細菌として病態形成に関与している可能性がある。しかし、*P. gingivalis* が AP の直接的な病因となることは稀であり、AP の発症に与える影響は明らかにされていない。*P. gingivalis* は肺のような好気的環境下では増殖しにくく、防御機構によって排除される。したがって、*P. gingivalis* 生菌の増殖によって肺炎を引き起こすのではなく、その菌体成分や生成物が *S. pneumoniae* などの感染力を増強させ、その相乗効果によって肺炎が成立している可能性がある。したがって、*S. pneumoniae* の呼吸器感染においては *P. gingivalis* などの歯周病原菌が、感染性を増強させる効果を発揮するのではないかと考えた。本研究の目的は、歯周病原菌である *P. gingivalis* が *S. pneumoniae* 感染マウス肺炎モデルにおいての呼吸器感染症に対して相乗効果を発揮するかどうかを明らかにすることである。

まず、*S. pneumoniae* 感染マウス肺炎モデルにおける生存率を調べたところ、コントロールマウス、*P. gingivalis* の培養上清 (PgSup) 単独投与マウスはすべての個体が生存していた。一方、*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウス、*S. pneumoniae* 感染マウスは規定日数でほぼ全ての個体が死亡したが、両群に有意な差は認められなかった。次に、*P. gingivalis* と *S. pneumoniae* の混合感染を行い肺の病理組織学的評価を行った。*S. pneumoniae* 感染マウスおよび *S. pneumoniae* と *P. gingivalis* の混合感染マウス共に、間質の肥厚や炎症細胞の浸潤を認めた。しかし両者に明らかな差は認めなかった。この結果から、肺は好氣的な環境であるため、偏性嫌気性の *P. gingivalis* の感染は難しいと考えられた。そこで、以降は、*P. gingivalis* の生菌ではなく、PgSupを使用した。*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスから採取した肺組織の病理組織学的評価において、コントロールマウスと PgSup 単独投与マウスでは、炎症所見は認められなかったが、*S. pneumoniae* 感染マウスおよび *S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスでは、間質の肥厚や炎症細胞の浸潤が認められた。また、*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスではより炎症が増強することが確認された。感染群において炎症細胞の浸潤を認めたことから、肺における好中球/マクロファージ分画の解析をフローサイトメーターを用いて行った。*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスではコントロールマウス、PgSup 投与マウスと比較すると有意に好中球数、マクロファージ数の増加を認めた。しかし、*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マ

ウスでは *S. pneumoniae* 感染マウスに比べると好中球数の増加傾向は認めるものの有意差は認めなかった。次に、*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスの肺組織 1 g あたりの CFU を測定した。その結果、*S. pneumoniae* と PgSup の混合感染マウスは、*S. pneumoniae* 感染マウスの CFU に比べて有意に増加していた。さらに、肺におけるサイトカイン・ケモカインの遺伝子発現を解析したところ、*S. pneumoniae* 感染群と *S. pneumoniae* と PgSup の混合感染群の肺では、TNF- α 、CXCL1、CXCL2 の mRNA 発現がコントロール群に比べて有意に増加していた。一方、PgSup 群では、肺における TNF- α 、CXCL1、CXCL2 の mRNA の発現は、コントロール群と比較して増加しなかった。混合感染群の TNF- α の mRNA 発現量は、*S. pneumoniae* 感染群に比べて有意に増加していた。また、混合感染群の肺における CXCL1 と CXCL2 の mRNA 発現量は、平均値は高くなったが *S. pneumoniae* 感染群に比べて有意な差は認めなかった。さらに、タンパクレベルでも確認した結果、TNF- α 、KC、MIP-2、IL-17 および IL-1 β は、*S. pneumoniae* 感染群と混合感染群で上昇した。コントロール群と PgSup 群では、これらのサイトカインはほとんど検出されなかった。肺における TNF- α 、IL-17 の産生量は、混合感染群では、*S. pneumoniae* 感染群に比べて有意に増加した。

本研究において、PgSup の単独添加では肺の炎症反応は起こらなかったことから、*P. gingivalis* の菌体成分/分泌物が間接的に *S. pneumoniae* 感染による炎症反応を促進することが示唆された。歯周炎が AP などの呼吸器感染症の

(論文審査の要旨)

No.4.....

愛知学院大学

増悪に及ぼす影響には、*P. gingivalis* 由来の病原因子が重要な役割を果たしている可能性が考えられる。本研究は、歯周病学のみならず関連諸学科に寄与するところが多い。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。