

論文の内容の要旨

氏名： 矢 口 学

博士の専攻分野の名称： 博士（歯学）

論文題名： *Candida albicans* 感染によるラット歯肉組織における遺伝子発現の網羅的解析ならびにヒト気管上皮細胞における *C. albicans* 感染に対するプロタミン加水分解ペプチドの効果

口腔常在菌である *Candida albicans* (*C. albicans*) は、近年、歯周組織の慢性炎症や口腔カンジダ症などの口腔疾患との関連性が報告されているうえ、誤嚥性肺炎などの様々な全身疾患を誘発することが明らかになっている。しかしながら、*C. albicans* 感染による口腔疾患や誤嚥性肺炎の発症と進行への関与については未だ不明な点が多く、画期的な予防法の確立がなされていない。そこで本研究では *C. albicans* に注目し、研究課題として 1) *C. albicans* 感染によるラット歯肉組織における遺伝子発現の網羅的解析、2) ヒト気管上皮細胞における *C. albicans* 感染に対するプロタミン加水分解ペプチド HAP-100 の効果、について検討を加えた。

まず、*C. albicans* を感染させたラット歯肉組織から抽出した total RNA を用い、DNA microarray にて遺伝子発現変動を網羅的に検出し、Ingenuity pathway analysis (IPA) 解析を行った。その結果、*C. albicans* 感染群において IL-1 β や TNFR1B の遺伝子発現が対照群よりも 2 倍以上、CCL2 遺伝子は 1.7 倍高く検出され、IL-1 や TNF が炎症反応経路の一つである古典的経路を介して CCL2 の発現に関与していることが示された。

次に、気管上皮細胞である BEAS-2B 細胞に *C. albicans* を感染させ細胞生存率を確認した後、*C. albicans* に HAP-100 を添加し増殖能への影響を検討した。また、BEAS-2B 細胞に *C. albicans* ならびに HAP-100 を同時に添加し、細胞から抽出した total RNA を用いて IL-6 および IL-8 の遺伝子発現を real-time PCR 法にて確認した。さらに、BEAS-2B 細胞に炎症性サイトカインである IL-1 β ならびに HAP-100 を同時に作用させ、培養上清を用いて ELISA 法にて IL-6 および IL-8 の産生量を測定し、total RNA を用いて real-time PCR 法にて遺伝子発現を確認した。

C. albicans は BEAS-2B 細胞に対し酵母形から菌糸形へ形態変化し接着することが示され、時間依存的に細胞生存率を低下させた。HAP-100 は *C. albicans* の増殖能および菌糸形への形態変化能を抑制し、さらに、BEAS-2B 細胞において *C. albicans* 感染によって上昇した IL-6 および IL-8 の遺伝子発現を抑制した。また、IL-1 β で刺激した BEAS-2B 細胞において、HAP-100 添加により *C. albicans* 感染実験と同様に上昇した IL-6 および IL-8 の産生量ならびに遺伝子発現レベルが減少した。

以上のことから、HAP-100 は *C. albicans* の増殖能および菌糸形への形態変化能の抑制による抗真菌作用を有するだけでなく、BEAS-2B 細胞において炎症抑制作用を有する可能性が示唆された。従って、プロタミン加水分解ペプチド HAP-100 は BEAS-2B 細胞における慢性炎症の発症と進行の予防に有効であると考えられた。