

論文審査の結果の要旨

氏名：田 口 寛 子

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：ラットの歯肉への LPS 接種が IL-6 と TNF- α 産生性に及ぼす影響

—*In vivo* 微小透析法を用いた解析—

審査委員：(主査) 教授 鈴木 直 人

(副査) 教授 清水 典 佳 教授 磯 川 桂太郎

教授 落 合 邦 康

矯正装置の口腔内への装着に伴う自浄性の低下および不潔域の増加は、歯周疾患を進展させる誘因のひとつである。歯周病では歯周組織の破壊を起こす慢性の炎症が見られ、その発症にはグラム陰性菌感染の関与が示唆されている。グラム陰性菌細胞壁の構成成分である lipopolysaccharide (LPS) の歯肉への接種は、歯周組織における炎症の惹起とこれに伴う組織破壊に関与することが動物実験で示されている。このことは LPS の歯肉への接種は、接種部位における炎症のケミカルメディエーターを増加させることを示唆している。しかしながらこれまでの実験動物を用いた研究では、*Escherichia coli* (*E. coli*) や *Salmonella typhimurium* などいずれも一般に歯周病原菌として報告されていない細菌の LPS が使用されており、さらに、LPS の歯肉への接種が同部位における炎症性サイトカインに及ぼす影響については明らかでない。そこで本研究では urethane 全身麻酔下のラットを用いて、*Porphyromonas gingivalis* 由来の LPS (*Pg*-LPS) の歯肉への接種が、同部位において微生物刺激により産生が促される炎症性サイトカインで歯周病の発症に関与する IL-6 および TNF- α 産生に及ぼす影響について検討した。また、*Pg*-LPS と *E. coli* 由来の LPS (*Ec*-LPS) は、IL-6 や TNF- α を含む炎症性サイトカインの発現に対する影響が異なることが歯周組織由来の細胞を用いた *in vitro* の実験で示されている。そこで本研究では、*Pg*-LPS の影響と比較する目的で *Ec*-LPS が歯肉の IL-6 および TNF- α 産生性に及ぼす影響についても同様に検討した。

微小透析実験には、4.5 mm の柄部の先端に膜長 2 mm、直径 440 μ m、カットオフ分子量 1,000 kDa のポリエチレン製微小透析膜と、その表面に薬物局所投与用ニードルを備えた直管型透析プローブを用いた。このプローブは lidocaine 表面麻酔下で上顎右側切歯遠心部の歯肉へ挿入し、微小透析膜全体を歯肉内に留置した。LPS は薬物局所投与用ニードルを介してマイクロシリンジで接種した。歯肉から得た透析液中の IL-6 および TNF- α は ELISA 法で定量した。さらに、*Pg*-LPS と *Ec*-LPS の receptor として働く Toll-like receptor (TLR) 2 および TLR4 の歯肉における mRNA 発現の有無を RT-PCR 法で、これら receptor の歯周組織における局在については免疫組織化学的に解析した。

その結果、以下の結論を得た。

1. *Pg*-LPS の歯肉への接種は TNF- α を一過性に増加させるが、IL-6 産生性には影響を与えないことが *in vivo* で示された。
2. *Pg*-LPS による歯肉の TNF- α 増加は、歯肉上皮細胞に発現した TLR-2 を介する可能性が示唆された。

以上のように本研究は、脳内や末梢組織の細胞外液に含まれる生理活性物質の測定に用いられる *in vivo* 微小透析法によって、炎症関連分子の IL-6 および TNF- α 量の動態をラットの歯肉において経時的に捉えることができることを明らかにしたもので、歯周疾患の病態解明と治療に関する基礎的研究分野に寄与するものと考えられた。

よって本論文は、博士(歯学)の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 27 年 3 月 11 日