

論文審査の結果の要旨

氏名：望 月 小枝加

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：*Porphyromonas gingivalis* 感染がもたらす全身への影響

—マウス口腔内感染モデルでの検討—

審査委員：（主査） 教授 鈴木 直 人

（副査） 教授 宮 崎 真 至

教授 小木曾 文 内

教授 小宮山 一 雄

糖尿病による慢性高血糖状態の持続は、過剰な炎症反応あるいは創傷治癒遅延を惹き起すことによって、歯周組織破壊をもたらすと考えられている。歯周病は、持続的な炎症疾患であることから、歯周組織局所で産生される炎症性サイトカインは血流を介して全身に波及し、インスリン抵抗性を惹起するとされている。動物実験での検討も行われており、西原らは糖尿病マウスを用いて頭頂部への *Porphyromonas gingivalis*（以後、*P. gingivalis*）感染が血糖値および血清レベルでの tumor necrosis factor- α （TNF- α ）および interleukin-6（IL-6）の上昇をもたらすことを示している。一方、細菌由来の LPS が肝臓への脂肪沈着を助長するとの報告があり、歯周病が肥満に影響を与える可能性も示唆されている。そこで本研究の著者は、両疾患の発症とその関連性における炎症性サイトカインおよび脂質代謝遺伝子の役割を明らかにするために、歯周病原細菌感染モデル（以後、歯周病モデル）を 2 型糖尿病マウスを用いて作製し、検討を加えた。

実験には、糖尿病マウスとして KK-Ay/Ta マウスおよびコントロールマウスとして C57BL/6 マウスを用いた。*P. gingivalis* を固定し、マウス背部皮下に 1 週間毎 3 回接種し、感作を行った。感作開始から 4 週目に、*P. gingivalis* の生菌を含む培養液に絹糸を浸漬し、KK-Ay/Ta と C57BL/6 マウスの上顎右側第 2 臼歯の歯肉溝に結紮した。歯肉溝への結紮から 0, 1, 5, 7 および 10 日目に体重および血糖値の測定を行った。各群 5 匹ずつ、結紮から 0, 5, 7 および 10 日後に、還流固定に準じた方法によって採血および脱血を行い、上顎骨および肝臓を切除し、試料とした。上顎骨は、実験動物用 3D マイクロ CT を用いて、接種後 0, 5, 7 および 10 日目に上顎右側第 2 臼歯の撮影を行った。得られたデータは、i-VIEW を用いて解析し、矢状方向の断層像を観察した。得られたマイクロ CT 画像より、上顎右側第 3 臼歯近心の歯槽骨吸収量を測定した。血清 TNF- α および IL-6 タンパク量は ELISA kit を用いて測定し、リアルタイム PCR 法を用いて肝臓中の TNF- α , IL-6, adiponectin receptor 2 (Adipo R2), sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) および insulin receptor substrate-2 (IRS-2) の遺伝子発現を調べた。また、上顎右側第 2 臼歯を中心に切片を作製し、組織学的観察を行った。

その結果、以下の結論を得た。

1. 糖尿病マウスにおいて、コントロールマウスと比較して有意な歯槽骨吸収が認められた。
2. 肝臓における TNF- α 遺伝子の発現は、両群ともに 0 日目と比較して 5 日目で有意に上昇した。IL-6 遺伝子の発現は、コントロールマウスにおいて 0 日目と比較して 5 日目で有意な上昇が認められた。
3. 肝臓中における SREBP-1c 遺伝子の発現は、糖尿病マウスにおいて 5 および 7 日目でコントロールマウスと比較して有意に高くなった。IRS-2 遺伝子の発現は、糖尿病マウスにおいて 0 日目と比較して 7 および 10 日目で有意な減少が認められた。

以上のように、本研究の結果は、歯周組織局所の *P. gingivalis* 接種は肝臓の遺伝子発現に影響を及ぼすことを示唆したもので、歯周病学ならびに関連医学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