

論文審査の結果の要旨

氏名：氷 見 一 馬

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Epstein-Barr virus reactivated by persistent apical periodontal pathogens induces interferon- γ expression

（根尖性歯周炎病原体により再活性化された Epstein-Barr virus は interferon- γ の発現を誘導する）

審査委員：（主 査） 教授 浅 野 正 岳

（副 査） 教授 小木曾 文 内

教授 今 井 健 一

教授 佐 藤 秀 一

Epstein-Barr virus (EBV) は、Burkitt's リンパ腫患者のリンパ球で発見された 4 型ヒトヘルペスウイルスであり、世界中の 90% 以上の人々が感染している。歯科領域においては潜伏感染した EBV が *Porphyromonas endodontalis* (*P. endodontalis*) の代謝産物である *n*-酪酸によって再活性化することなどが明らかにされている。根尖病巣中には *P. endodontalis* 以外にも *n*-酪酸を産生する菌が存在しており、それらの菌が EBV の再活性化に関与している可能性が考えられるが、詳細は不明である。

そこで、難治性根尖性歯周炎の原因菌により産生される *n*-酪酸が、根尖病巣内で EBV の再活性化とこれに伴う interferon- γ (INF- γ) の発現を誘導し得るかという点について検討した。

日本大学歯学部附属歯科病院に来院し、歯根肉芽腫 ($n = 50$) と診断された患者の組織を研究に用いた。また、完全水平埋伏歯の抜去の際に採取した健常歯肉組織 ($n = 10$) をコントロールとして用いた。試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承諾 (EP16D026) を得て実施した。

歯根肉芽腫および健常歯肉組織における EBV DNA および難治性根尖性歯周炎原因菌 (*Fusobacterium nucleatum* (ATCC25586 株), *Staphylococcus epidermidis* (IID886 株), *Streptococcus mitis* (ATCC49456 株), *Prevotella intermedia* (ATCC25611 株), *Actinomyces naeslundii* (ATCC12104 株), *Enterococcus faecalis* (ATCC19433), *Candida albicans* (ATCC18804) の 7 菌種) の存在量を real-time PCR により定量的に検出した。

EBV の再活性化については、再活性化遺伝子である BZLF-1 mRNA の発現量を real-time PCR により検出し、Pearson's 相関係数を用いて難治性根尖性歯周炎の病原体の存在量と統計学的に比較した。根尖病巣内の LMP-1 および ZEBRA の発現については免疫組織学的に、また、病巣内 B 細胞における ZEBRA の発現は免疫蛍光二重染色により検討した。さらに、BZLF-1 発現の誘導能は B95-8-221 細胞を用いた Luciferase assay 法により、ZEBRA の発現については Daudi 細胞を用いた Western blot 法によって、また、炎症増悪因子である IFN- γ の産生については ELISA 法により定量した。

その結果、以下の結論を得た。

1. 歯根肉芽腫中の EBV DNA と *F. nucleatum* の出現量は同一患者における BZLF-1 mRNA 発現量と有意な相関を認めた。また、*n*-酪酸の産生量が最も高い *F. nucleatum* の上清は、BZLF-1 ルシフェラーゼ活性を有意に増加させ、Daudi による BZLF-1 mRNA および ZEBRA の発現を誘導し EBV の再活性化に関与している可能性が明らかとなった。
2. 歯根肉芽腫中の CD79a 陽性 B 細胞は LMP-1 および ZEBRA を発現しており、EBV の潜伏感染と再活性化が混在していることが明らかとなった。
3. *F. nucleatum* の上清中の *n*-酪酸は Daudi による IFN- γ 発現を増強した。

以上のことから、根尖病巣中に存在する *F. nucleatum* により産生された *n*-酪酸は、EBV の再活性化と IFN- γ 産生を誘導し、根尖性歯周炎の炎症を増悪、難治化させている可能性が示唆された。本研究により得られた知見は、歯内療法学ならびに関連歯科臨床分野に寄与するところが大きいものと考えられた。

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

令和 2 年 3 月 11 日