

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	曾 浩紀
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
<p><i>Porphyromonas gingivalis</i> の抽出物の末梢投与により惹起された脳内炎症に対する三環系抗うつ薬 imipramine の抗炎症効果の研究</p>			
論文審査担当者			
主 査	教授 宮内 睦美	印	
審査委員	教授 栗原 英見		
審査委員	教授 入船 正浩		
<p>〔論文審査の結果の要旨〕</p> <p>歯周病は、口腔内における局所炎症疾患である。近年、歯周病は、糖尿病や心疾患などの危険因子となるなど、全身に様々な影響を与えることが明らかとなってきた。さらに、疫学調査によって歯周病がアルツハイマー型認知症の危険因子であることが報告され、歯周病と中枢神経機能障害との関連性が注目されている。アルツハイマー型認知症患者の脳内から、歯周病原細菌である <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>P. gingivalis</i>) の細胞壁構成成分 lipopolysaccharide (PgLPS) が検出された。また、PgLPS 投与によりマウスは認知機能障害を引き起こし、脳においても PgLPS が検出されることが明らかとなった。そこで、歯周病は、歯周病原細菌そのもの、あるいは PgLPS が中枢神経系に直接移行して炎症を惹起しているのではないかと考え、歯周病罹患による末梢炎症が脳内炎症を引き起こすメカニズムに焦点をあて解析を行った。</p> <p>本研究では、動物モデルを用いて <i>P. gingivalis</i> 菌の LPS に富んだ抽出物 (LPS-PG : lipopolysaccharide standard from <i>Porphyromonas gingivalis</i>; InvivoGen, San Diego, CA, USA) の腹腔内への末梢投与が、脳の炎症を惹起するかを検討した。マウス（雄性 C57BL/6J、8週齢）に LPS-PG (5 mg/kg) を腹腔内投与したところ、海馬における炎症性サイトカイン interleukin-18 (IL-18), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-<math>\alpha</math> (TNF-<math>\alpha</math>) の遺伝子発現が亢進した。ミクログリアは、脳内の恒常性維持に関与するグリア細胞で、炎症応答の主たる細胞であることが知られている。今回の LPS-PG の末梢投与実験モデルでは、海馬におけるミクログリアの活性化マーカーである ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba-1) の遺伝子発現が亢進していた。これらの結果から、LPS-PG の腹腔内投与は、マウスの海馬におけるミクログリアが関連する炎症応答を亢進させることが示唆された。</p> <p>次に、ミクログリアに対する PgLPS の影響を検討するため、マウスミクログリア細胞株</p>			

である MG-6 細胞を用いて検討を行った。MG-6 細胞を LPS-PG (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で刺激したところ、nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) 経路の活性化と同時に、炎症性サイトカイン (IL-18, IL-6, TNF- $\alpha$ ) の遺伝子発現が亢進した。さらに、この炎症性サイトカインの遺伝子発現の亢進は、NF- $\kappa$ B 経路の阻害薬である BAY 11-7085 (3  $\mu\text{M}$ ) の前処置により抑制された。これらの結果から、MG-6 細胞における LPS-PG 誘発性の炎症応答は、NF- $\kappa$ B 経路を介することが明らかとなった。さらに、toll-like receptor (TLR) 2 の阻害薬である CU-CTP22 (10  $\mu\text{M}$ ) の前処置は LPS-PG 刺激による炎症性サイトカインの遺伝子発現を抑制したことから、LPS-PG は MG-6 細胞において TLR2 を介して炎症応答を引き起こすことが明らかとなった。

精神疾患であるうつ病の病態に炎症が関与することが明らかとなってきた。抗うつ薬はうつ病の症状を改善することから、炎症応答を抑制する可能性を考え、三環系抗うつ薬であるイミプラミンをマウスおよび MG-6 細胞に処置することで検討を行った。イミプラミン (20 mg/kg) のマウス腹腔内への前投与は、LPS-PG の末梢投与によるマウス海馬での炎症性サイトカインの発現亢進を抑制した。MG-6 細胞を用いた検討では、イミプラミン (25  $\mu\text{M}$ ) は LPS-PG による NF- $\kappa$ B 経路の活性化を抑制した。

活性化したミクログリアは、神経細胞に対して細胞死を引き起こす。そこで、LPS-PG (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) で刺激した MG-6 細胞の培養上清をマウス由来神経芽細胞腫細胞株である Neuro2a 細胞に対して添加したところ、神経細胞は細胞死を引き起こした。しかし、NF- $\kappa$ B 阻害薬である BAY11-7085 (3  $\mu\text{M}$ ) あるいはイミプラミン (25  $\mu\text{M}$ ) の処置後に LPS-PG 刺激を行った MG-6 細胞の培養上清では、LPS-PG 刺激した MG-6 細胞の培養上清と比較して、Neuro2a 細胞に対する細胞傷害性は有意に抑制された。すなわち、イミプラミンが LPS-PG による MG-6 細胞の NF- $\kappa$ B 経路を介した Neuro2a 細胞に対する細胞傷害性を抑制することが示された。

以上の結果から、本論文は腹腔内に投与された LPS-PG は、マウスの海馬ミクログリアにおいて TLR2 を介した NF- $\kappa$ B 経路の活性化により炎症応答を惹起する事が示唆された。また、三環系抗うつ薬であるイミプラミンは、ミクログリアにおける NF- $\kappa$ B 経路を抑制することでミクログリアによる神経細胞死を抑制することから、歯周病による脳内炎症とそれによる中枢機能障害をイミプラミンの投与で改善する可能性が示された。

よって審査委員会委員全員は、本論文が曾 浩紀に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。