

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	石田 えり
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目			
Impact of maternal odontogenic infection of <i>Porphyromonas gingivalis</i> on brain of mouse offspring (母親の <i>Porphyromonas gingivalis</i> 菌性感染が仔の脳組織に与える影響)			
論文審査担当者			
	主査	教授	太田 耕司 印
	審査委員	教授	寺山 隆司
	審査委員	教授	吾郷 由希夫
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>歯周炎の主な病原因子である <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>P.g.</i>) は，全身疾患との関連が多く報告されており，全身の健康状態に影響を及ぼすことが分かってきた。その中でも <i>P.g.</i> が子宮内感染を引き起こす可能性があることが示されており，子宮内感染・炎症にさらされた胎児は在胎日数に関係なく脳神経障害を有するリスクが高い。また，近年，アルツハイマー病患者の脳内に <i>P.g.</i> が検出され，認知機能に悪影響を及ぼしている可能性が報告されている。</p> <p>これらの知見から，歯周炎に罹患している妊婦では菌性感染病巣から <i>P.g.</i> が胎盤を介して児の脳に移行し，児の認知機能や学習機能に影響を及ぼす可能性が考えられる。しかしながら，母体の <i>P.g.</i> が胎盤を介して児の脳に移行し，脳神経障害を誘導する可能性やメカニズムについては未だ明らかでない。本研究ではまず第一の目的として，以前に確立した <i>P.g.</i> 菌性感染妊娠マウスモデルを用いて，母親マウスの <i>P.g.</i> 菌性感染が仔マウスの行動や脳組織に与える影響について検討した。また，<i>P.g.</i> の主要な病原因子の一つであるジンジパインはアルツハイマー病 (AD) 患者の海馬において検出されている。マウスに対して <i>P.g.</i> を経口投与すると，脳内に <i>P.g.</i> が侵入し，TNF-α やアミロイド β が増加すること，またジンジパイン阻害薬の経口投与がジンジパイン誘導性の神経変性を抑制し脳内の <i>P.g.</i> の量を有意に減少させることが報告されている。さらに，AD 患者を対象としたジンジパイン阻害薬の治療効果に関する臨床研究も行われている。以上のことから，本研究の第二の目的として，ジンジパイン阻害薬 (GIX) が <i>P.g.</i> 菌性感染誘導性の早産および仔の脳組織障害に与える改善効果について検討した。</p> <p><i>P.g.</i> W83 株 (10^8 CFU) を 5 週齢雌性 C57BL/6J マウスの上顎両側第一臼歯歯髄から感染させ，その 6 週後に交配を開始し，産まれた仔マウスを <i>P.g.</i> 群とした。また，非感染マウスから産まれた仔マウスを対照群 (Cont 群) とした。生後 44, 45 日目に受動的回避試験を実施後，脳組織を回収し，組織学的評価および Real-time PCR にて IL-6 mRNA の発現量を定量した。受動的回避試験の結果より <i>P.g.</i> 群では明室に留まる時間が有意に短く，恐怖体験の記憶障害が認められた。免疫組織化学的解析から <i>P.g.</i> 群の脳内に <i>P.g.</i> の局在を確認した。<i>P.g.</i> 群では海馬における錐体細胞数が有意に減少し，特に CA3 領域では萎縮変性を示す錐体細胞が増加するとともに，たく長い突起を有する GFAP 陽性アストロサイトが増加し，GFAP 陽性面積率が有意に増加した。また，記憶の形成に重要とされ</p>			

る転写因子 CREB の陽性細胞数は *P.g.* 群で減少傾向を示し、CA3 領域で有意に減少した。また、IL-6 mRNA の発現量は *P.g.* 群で有意に増加した。一方、*P.g.* 群の大脳皮質では、Iba-1 陽性ミクログリアが有意に増加し、突起の短いマクrofアージ様ミクログリアが多く観察された。また、扁桃体においても錐体細胞数ならびに CREB 陽性細胞数が *P.g.* 群で有意に減少した。

次に GIX が *P.g.* 歯性感染誘導性の早産および仔の脳組織障害に与える改善効果を検討した。Cont 群、*P.g.* 群および GIX を投与した *P.g.*+GIX 群の 3 群を作製した。*P.g.* 感染から 3 週間後より、Cont 群および *P.g.* 群の母親マウスには PBS を、*P.g.*+GIX 群には GIX (20 mg/kg/day) を出産するまで毎日皮下注射にて投与した。上述の実験と同様に生後 44, 45 日目で仔マウスの評価を行った。各群の在胎日数の平均は、Cont 群 19.8 日、*P.g.* 群 19.1 日、*P.g.*+GIX 群 20.4 日であり、GIX 投与は *P.g.* 歯性感染による早産を有意に改善した。*P.g.*+GIX 群の根尖部には *P.g.* の供給源となる歯根肉芽腫が残存しており、原病巣の根治は GIX 投与のみでは不十分であった。受動的回避試験では、*P.g.* 群は明室に留まる時間が有意に短く、恐怖体験記憶に対する異常を認めたが、*P.g.*+GIX 群において Cont 群と同程度まで改善された。免疫組織化学的解析からは *P.g.*+GIX 群の脳内に *P.g.* の局在はほとんどみられなかった。また、*P.g.* 群の海馬において錐体細胞数が有意に減少し、萎縮変性を示す錐体細胞が確認されたが、*P.g.*+GIX 群でこれらの変化は軽減した。さらに、GIX 投与は *P.g.* 群でみられた GFAP 陽性アストロサイト面積率の増加傾向を Cont 群と同程度にまで減少させた。また、*P.g.*+GIX 群は *P.g.* 群の CA3 領域で見られた CREB 陽性細胞数の減少には影響しなかった。IL-6 mRNA の発現量は *P.g.* 群で有意に増加し、*P.g.*+GIX 群では *P.g.* 群に比較して減少を認めた。一方、大脳皮質において *P.g.* 群で Iba-1 陽性ミクログリアが有意に多くなったが、*P.g.*+GIX 群では Cont 群と同程度まで減少した。以上のことから、母親の *P.g.* 歯性感染により引き起こされた仔マウスの認知機能の低下や脳組織の変化は、ジンジパインを抑制することで改善傾向を認めることが示された。

本研究から、*P.g.* 歯性感染母親マウスから産まれた仔マウスでは *P.g.* が脳に侵入し、海馬では錐体細胞や CREB 発現細胞の減少を伴う神経変性が起こること、また大脳皮質では軽微な神経炎症が起こることによって認知機能が低下する可能性が示された。さらに、*P.g.* の病原因子の一つであるジンジパインが、*P.g.* 歯性感染誘導性早産や仔の脳神経障害に関わる主要な因子の一つであることが示唆された。

以上の結果から、本論文は、母親における歯周病原菌の歯性感染が胎児の脳神経障害に関与する可能性を示した有意義なデータを提供し、関連歯科医学の発展に寄与するところが大きいと高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が石田えりに博士（歯学）の学位を授与するに十分価値あるものと認めた。