

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	長崎 敦洋
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Odontogenic infection of <i>Porphyromonas gingivalis</i> exacerbates pathological progression of non-alcoholic steatohepatitis through activation of hepatic stellate cells. ( <i>Porphyromonas gingivalis</i> 歯性感染は肝星細胞を活性化し、非アルコール性脂肪性肝炎の病態を増悪する)			
論文審査担当者			
主査	教授 栗原 英見	印	
審査委員	教授 兼松 隆		
審査委員	教授 柴 秀樹		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>近年，食生活の欧米化に伴う肥満率の増加が深刻な社会問題となっている。肝臓での肥満の表現型の1つである非アルコール性脂肪性肝炎（non-alcoholic steatohepatitis; NASH）は，単純性脂肪肝を基盤とし，酸化ストレスや腸内細菌由来因子等が複合的に関与して発症する。NASHの病態は軽度の炎症から線維化を示す進行病変まで様々で，肝硬変や肝癌に移行する可能性のある疾患のため，予防や早期治療が重要である。私の所属する研究室では，高脂肪食（high fat diet; HFD）誘導脂肪肝マウスモデルを用い，歯周病原細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>P.g.</i>) の歯性感染により，血中 <i>P.g.</i>由来内毒素 (<i>P.g.</i>-LPS) 濃度の上昇や肝臓への <i>P.g.</i>感染が観察され，NASHの病態，特に線維化が進行することを明らかにした。しかし，<i>P.g.</i>歯性感染によるNASHの線維化亢進機序は未だ不明である。</p> <p>近年，肝臓の線維化には肝星細胞（hepatic stellate cell; HSC）の活性化が重要な役割を担っていることが明らかとなっている。特に TGF-<math>\beta</math>1 や Galectin-3 (Gal-3) は Smad や ERK pathway を介して，HSC を活性化し，肝線維化を促進する因子として注目されている。そこで本研究では，<i>P.g.</i>歯性感染によるNASHの線維化進行機序を明らかにする目的で，HSC活性化における TGF-<math>\beta</math>1 や Gal-3 の関与を調べた。また，<i>P.g.</i>歯性感染によるNASHの病態進行に対する治療介入の効果を検討した。</p> <p><b>1. 脂肪化によるHSCおよび肝細胞のTLR2やPAR-2発現の検討</b> Palmitate (0.2mM) 処理による脂肪化は，HSC (LX-2) や肝実質細胞である肝細胞 (Hc3716) の Toll like receptor 2 (TLR2; <i>P.g.</i>-LPS の主たる受容体) の発現と HSC の Protease-activated receptor 2 (PAR-2; ジンジパイン受容体で，TGF-<math>\beta</math>1 産生に関与) の発現上昇を誘導した。</p> <p><b>2. <i>P.g.</i>感染および <i>P.g.</i>-LPS による HSC 活性化の検討</b> 1) HSC に <i>P.g.</i> (W83 株) を multiplicity of infection (MOI) 100 で感染させたところ，Smad や ERK pathway を介し，筋線維芽細胞の分化の指標である <math>\alpha</math>-smooth muscle actin (<math>\alpha</math>-SMA) の発現上昇や細胞外マトリックスである type I collagen (Col I) の著明な産生を誘導した。<i>P.g.</i>-LPS (1<math>\mu</math>g/ml) 刺激も同様に，<math>\alpha</math>-SMA や Col I の著明な産生を誘導した。特に <i>P.g.</i>感染は，HSC の増殖能も亢進した。2) TGF-<math>\beta</math>1 および Gal-3 は，Smad と ERK pathway を介し，<math>\alpha</math>-SMA や Col I の産生を誘導した。特に Gal-3 は，HSC の TGF-<math>\beta</math> receptor II の発現上昇も誘導した。3) <i>P.g.</i>感染により，HSC および肝細胞から TGF-<math>\beta</math>1 と Gal-3 の著明な産生が認められた。特に，脂肪化 HSC では，TGF-<math>\beta</math>1 産生量が有意に増加した。一方，<i>P.g.</i>-LPS 刺激では，TGF-<math>\beta</math>1 産生誘導は確認できなかったが，Gal-3 の著明な産生増加が認められ，脂肪化肝細胞ではより増加する傾向が示された。</p> <p><b>3. <i>P.g.</i>歯性感染によるNASHの病態進行に対する治療介入の効果の検討</b></p>			

HFD 誘導脂肪肝マウスモデルの上顎両側第一臼歯の歯髄から *P.g.* ( $10^7$  個) を感染させ、6 週後に抗生剤 azithromycin (AZM; 50mg/ml) の歯科治療 (AZM 液にて髄腔内を洗浄した後、AZM 液含有綿球を留置) や経口投与を行い、3 週後に肝組織の線維化領域や肝の線維化と正の相関を示すことが知られる MΦ の集簇巣 (hepatic crown-like structure; hCLS) 数を組織計測学的に検討した。*P.g.* 菌性感染により増加した Sirius red 染色陽性線維化領域が歯科治療群、経口投与群ともに有意に減少した。また、hCLS 数も減少したが、歯科治療群でのみ有意差がみられた。

以上の結果から、本論文は *P.g.* 菌性感染による NASH の病態進行機序として、*P.g.* 感染や *P.g.*-LPS による HSC や肝細胞からの TGF- $\beta$ 1 や Gal-3 産生を介した HSC の活性化が重要な役割を果たすことが明らかとなった。特に脂肪化は、HSC の PAR-2 の発現を上昇させ、TGF- $\beta$ 1 の産生量を有意に増加すること、HSC や肝細胞の TLR2 発現を上昇させ、Gal-3 産生量を増加する可能性があることが示された。また、歯科的治療介入は、線維化を抑制し、NASH の病態進行を抑制する治療戦略となることが示された。

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