

Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide により誘発される
好中球細胞外トラップの発現

酒寄 智央

論文内容の要旨

好中球細胞外トラップ (NETs) は、好中球の生体防御機構の一つで、慢性歯周炎患者の歯周組織において観察されるが、歯周病原細菌により発現するメカニズムは不明な点が多い。また、末梢血好中球と比較して、歯肉溝滲出液 (GCF) 好中球における NETs 発現については未だ明らかにされていない。本研究は、*Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (PG-LPS) により誘発される NETs 発現の解明を目的として行った。健康者 6 名の末梢血から分離した好中球に対して、1, 10, 100 $\mu\text{g/ml}$ PG-LPS で刺激し、走査電子顕微鏡 (SEM) により NETs 発現を形態学的に、免疫蛍光染色により DNA, ヒストン, 好中球エラスターゼ (NE) の局在, 生化学的に細胞外 DNA 量と NE 量を評価した。また, NETs 発現に関与する好中球の Toll-like receptor (TLR) 2 と 4 を阻害し, PG-LPS による NETs 発現の TLR の関与を検証した。さらに, GCF 中の好中球の NETs 発現について免疫蛍光染色および生化学的検討を行い, 以下の結果を得た。

1. SEM 像において, PG-LPS (100 $\mu\text{g/ml}$ 以下同じ) 刺激で好中球から糸状の構造物の放出が観察された。
2. 免疫蛍光染色像では, PG-LPS 刺激で放出された構造物は NETs であることが確認された。
3. 細胞外 DNA 量と NE 量は, 無刺激時と比べて PG-LPS 刺激で有意に増加した。
4. TLR2 と 4 を阻害した好中球では, PG-LPS 刺激で NETs 発現の減少が認められた。
5. GCF 好中球では, 末梢血好中球と比較して, 無刺激でも NETs 発現が認められ, さらに PG-LPS 刺激で, 細胞外 DNA 量が有意に増加した。

論文審査の結果の要旨

本研究は, PG-LPS で誘発される末梢血好中球と GCF 好中球 NETs 発現について検討したものである。その結果, 末梢血好中球は PG-LPS 刺激で NETs 発現が起こり, その発現には TLR2 と 4 が関与し, さらに GCF 好中球では無刺激においても NETs 発現が認められ, また PG-LPS 刺激で発現が増加した。これらの知見は, 歯周組織における NETs の生体防御機構への関与を示唆するものであり, 歯学に寄与するところが多く, 博士 (歯学) の学位に値するものと審査する。

主査	高橋 幸裕
副査	筒井 健夫
副査	佐伯 周子

最終試験の結果の要旨

酒寄智央に対する最終試験は, 主査 高橋幸裕 教授, 副査 筒井健夫 教授, 副査 佐伯周子 教授によって, 主論文を中心とする諸事項について口頭式問が行われ, 優秀な成績で合格した。