

## 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	佐藤 匠
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部 教授 辰巳 順一 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 永山 元彦 (副 査) 朝日大学歯学部 教授 引頭 毅
論文題目 <i>Porphyromonas gingivalis</i> を口腔感染させたコラーゲン誘発関節炎モデルマウスの 脊椎におよぼす影響	
<p><u>論文審査の要旨</u></p> <p>近年では歯周病が関節リウマチ(RA)の発症や増悪に影響をおよぼすことが示唆されている。本研究の目的は <i>P. g</i> 口腔感染により RA モデルマウスとして用いたコラーゲン誘導性関節炎モデルマウスの脊椎に与える影響について検討することである。</p> <p>本研究は DBA/1J (日本エスエルシー) マウス 36 匹を本研究に供した。本マウスのうち 12 匹は Control 群とし, 残り 24 匹にはウシ II 型コラーゲンからなる抗原を 0.01M 酢酸リン酸緩衝液にて 8 mg/ml に調整したものとフロイント不完全アジュバントで <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra を 4 mg/ml に調整したフロイント完全アジュバントを等量で合わせたエマルジョンを投与し RA モデルマウスを作製した。エマルジョンの投与は 8 週齢時に 1 回目として耳介基部皮内に, 11 週齢時に 2 回目として尾根部皮内に 0.025ml/animal ずつ, 合計コラーゲン量として 0.2mg/animal 投与し関節炎を惹起させた。そのため本 RA モデルマウスはコラーゲン誘導性関節炎 (CIA) 呼ばれている。本研究に供した CIA マウスのうち 12 匹を <i>P. g</i> 感染群, 12 匹を <i>P. g</i> 非感染群として振り分けた。実験開始後 45 日目に屠殺し, 脊椎を採取し, 以下の項目について検討した。脊椎の椎体間距離を確認するために Micro computed tomography (ScanXmate-RB 090SS, コムスキャンテクノ: マイクロ CT) を用いて計測をおこなった。脊椎の関節周囲骨組織の形態学的観察をする目的で, マイクロ CT による観察, サフラニン-O/ファストグリーン染色により関節周囲の組織学的形態を評価した。さらに脊椎関節は軟骨に存在するタイプ II 型コラーゲンの分解能を観察する目的で, Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) 抗体を用いた免疫組織染色を行った。</p> <p>これらの実験より結果としては, マイクロ CT による解析では <i>P. g</i> 感染群において脊椎間距離の減少を有意に認めた (<math>p &lt; 0.05</math>)。サフラニン-O/ファストグリーン染色による組織学的形態ではグリコサミノグリカンの顕著な現象が軟骨終板に見られた。MMP-13 で染色された軟骨終板において, 軟骨終板および線維輪で検出された MMP-13 陽性細胞数は, 対照群と比較し実験群では 1.6 倍増加していた (<math>p &lt; 0.05</math>)。</p>	

これらの結果を踏まえ考察すると、安田らは、同モデルマウスの DBA/1J マウスを用いて *P. g* を直接口腔内投与した場合に非投与群と比較し *P. g* の血清抗体価の高値、高度な歯槽骨吸収、膝関節部の関節炎が悪化することを報告した。本研究では関節の集合体である脊椎に着目し *P. g* の感染により関節炎モデルマウスの脊椎関節部にどう影響を与えるのか検討してみた。軟骨細胞と滑膜細胞から産生される軟骨破壊のマーカースとして MMP-13 の存在が挙げられるが安田らの研究では膝関節部での MMP-13 陽性細胞数が実験群と対照群とで 40 倍の差があるとしている。脊椎関節部の MMP-13 陽性細胞数の差は 1.6 倍と膝関節部と比較すると低いものとなった。関節リウマチの症状として身体の中枢部より末端部にしやすいと考察することができる。マイクロ CT や組織所見でも *P. g* 感染群と非感染群を比較すると脊椎間減少や軟骨の破壊などが確認でき関節の集合体である脊椎にも影響を与えることが確認された。よって *P. g* を口腔感染させると脊椎の関節炎症状の悪化、周囲に MMP-13 の発現を増加させ RA 病態の増悪することが示唆された。

よって審査委員は、本論文を博士（歯学）の学位を授与するに値すると判定した。