


学 位 論 文 内 容 の 要 旨

論文提出者	竹内 浩子		
論文審査委員	(主 査) 朝日大学歯学部教授	渋谷 俊昭	
	(副 査) 朝日大学歯学部教授	近藤 信夫	
	(副 査) 朝日大学歯学部教授	田沼 順一	
論文題目			
LPS 投与と外傷性咬合により惹起した実験的歯周炎マウスにおける脾細胞機能の変化			
論文内容の要旨			
<p>【目的】</p> <p>歯周炎の進行は誤嚥性肺炎や細菌性心内膜炎など感染症および冠動脈疾患や脳梗塞など全身性の血管障害と疫学的に関連することはよく知られているが、それらを具体的に関連付ける免疫学的な機構については、未だ十分に明らかにされていない。細菌に由来する起炎物質に顆粒球や単球などの免疫応答が加わり、歯周炎は引き起こされ、さらに感染が拡大してリンパ球が免疫応答することにより歯周炎は進行して歯周組織は破壊される。歯周炎の発症と進行には、細菌由来成分の刺激のみならず、不正咬合による外傷性咬合などの物理的刺激も増悪因子の一つである。そこで本研究では、先ず、マウスの歯肉に細菌分（大腸菌由来リポ多糖，LPS）を投与し、レジン築盛により不正咬合を誘発させた口腔内炎症動物モデルの作製を試みた。そして作製した動物モデルにおいて、脾細胞を用い免疫系の中樞を担う T リンパ球の変化を検討した。</p> <p>【材料および方法】</p> <p>C57BL/6J 系統マウスを数週粉末餌で馴化させた後、上顎臼歯部頬側歯肉に LPS を生理的リン酸緩衝液（PBS）に溶かして 3 日毎に繰り返し投与して炎症を誘発した。さらに同部咬合面に歯科用コンポジットレジン（CR）を築盛して実験的に不正咬合を惹起した（LPS 投与 CR 築盛）。また、対照群として、無処置、LPS を含まない PBS 投与のみ、LPS 投与のみ、CR 築盛のみの 4 群を設けた。そして、3 日毎に体重測定をし、7 日目 と 21 日目に上顎と脾臓を採取した。上顎骨をコンピューター断層撮影後に脱灰してパラフィン切片にし、ヘマトキシリン-エオシン染色と酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ染色した。脾細胞を培養皿上で T リンパ球刺激培養し、培養上清中のインターフェロン-ガンマ（IFN-γ）とインターロイキン-10（IL-10）の濃度を酵素結合免疫吸着法により定量した。また、T リンパ球亜集団をフローサイトメトリーにより調べた。</p>			

【結果】

- ① 処置後 3 日目に、CR 築盛が施されたマウスの体重は低下した。しかし、CR 築盛のみ対照群マウスの体重は、14 日処置後以降に他の対照群と同様にまで回復した。ところが、LPS 投与 CR 築盛群の体重低下は、21 日目まで回復しなかった。
- ② LPS 投与 CR 築盛群の処置部歯周組織に、7 日目にリンパ球の集積と破骨細胞の活性化が認められ、更に 21 日目にはリンパ球集積と著名な顎骨の吸収を認めた。
- ③ LPS 投与 CR 築盛群の脾細胞の T 細胞刺激による IFN- γ と IL-10 の産生能は、7 日目に対照群に比べ低下し始め、21 日目にはさらに低下していた。
- ④ LPS 投与 CR 築盛群の Th1 傾向 (IFN- γ : IL-10 比) は、7 日目に対照群に比べ増強傾向を示し、処置後 21 日目には顕著に増強していた。

LPS 投与 CR 築盛群のマウスの脾細胞数は、7 日目と 21 日目いずれにおいても対照群に比べ増加していたが、脾 T リンパ球亜集団の比較構成に明確な変化は認められなかった。

【考察】

・マウス上顎臼歯部頬側歯肉に細菌成分の LPS を投与し、炎症を誘発させ、さらに CR 築盛により不正咬合を誘発した。これらの処置により、処置部歯周組織へのリンパ球集積と破骨細胞の活性化および骨吸収を伴う、ヒト歯周炎と類似した、実験的歯周炎モデル動物を作製した。

・本実験的歯周炎モデル動物における脾細胞中の T 細胞の機能低下は、全身的な感染抵抗性の脆弱化を示している。この全身的感染抵抗性脆弱化は、感染が拡大して歯周病が進行することや歯周炎が誤嚥性肺炎や細菌性心内膜炎など感染症を誘導することと関連するヒト歯周炎病態の免疫学的機構を示唆している。

・本実験的歯周炎モデル動物における脾細胞の Th1 型傾向は、誘発した歯周炎が同じく Th1 型傾向を示すヒト歯周炎の病態像を免疫学的に反映していることを示唆している。

・本実験的歯周炎モデル動物における脾 T 細胞亜集団は、実験群で脾細胞数の増加が認められたが、T 細胞サブセットの比率では対照群のそれと明確な違いは認められなかった。今後さらに、B リンパ球や単球/マクロファージなどの量的変化や機能的変化を検討することにより、T 細胞の機能低下や Th1 型傾向が増強される機構を明らかにできると考えられる。

【結論】

歯周病を反映する本実験的モデル動物の作出とその解析は、ヒト歯周炎患者の全身的な免疫学的変化の解明に寄与し、新規診断法や新規治療法の開発に貢献しうるものと期待される。