



Title	低濃度Porphyromonas gingivalis LPS前処理によるヒト単球のIL-6産生性
Author(s)	林, 尚志
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40091">https://hdl.handle.net/11094/40091</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	はやし 林 尚 志
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 13069 号
学 位 授 与 年 月 日	平成9年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学 位 論 文 名	低濃度 <i>Porphyromonas gingivalis</i> LPS 前処理によるヒト単球の IL-6 産生性
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡田 宏  (副査) 教 授 恵比須繁之    助教授 大嶋 隆    講 師 木村 重信

### 論 文 内 容 の 要 旨

歯周病患者の歯周ポケットにおいて優勢であるグラム陰性菌の外膜に存在するリポ多糖体 (LPS ; lipopolysaccharide) は、宿主に対して様々な免疫生物学的作用を発揮することが知られている。したがって、成人性歯周炎の主たる病原菌と目される *Porphyromonas gingivalis* 由来の LPS も、同歯周炎の病態形成に関与しているものと考えられる。LPS はその主たる標的細胞である単球/マクロファージ (Mφ) とレセプターを介して結合することにより、同細胞を活性化して種々の炎症性サイトカインの産生を誘導する。また、これら LPS による刺激は標的細胞の活性化を導くのみならず、LPS に長時間細胞を暴露することにより、同 LPS の二次刺激に対する細胞の低応答性あるいは不応答性 (LPS tolerance) を誘導することが、*in vitro* のみならず *in vivo* において報告されている。本研究は、*P. gingivalis* LPS のヒト単球に対する生物活性ならびにその作用機序を明らかにすることを目的として、種々の条件下における *P. gingivalis* LPS のヒト単球への結合性を調べるとともに、同 LPS で LPS tolerance を誘導することにより同細胞が機能調節を受けるか、IL-6 および IL-8 の産生ならびに活性酸素 ( $O_2^-$ ) 産生性について検討したものである。ビオチン標識化した *P. gingivalis* LPS のヒト単球に対する結合性をフローサイトメトリーにより検討した結果、*P. gingivalis* LPS はヒト血清あるいはウシ胎仔血清 (FCS) 存在下でヒト単球に対して濃度依存的に結合し、100 ng/ml の濃度以下の LPS では抗 CD14 抗体の前処理により、その結合はほぼ完全に抑制された。また、血清非存在化でも *P. gingivalis* LPS とヒト単球の結合は認められるが、血清存在下と比較して100倍以上の濃度を必要とした。この結果より、*P. gingivalis* LPS とヒト単球の結合においても、CD14 分子が高感度の結合分子として機能することが示された。血清存在下における *P. gingivalis* LPS のヒト単球への結合は、*P. gingivalis* LPS あるいは *E. coli* LPS の添加により競合的に阻害された。また *P. gingivalis* および *E. coli* のいずれの LPS のヒト単球への結合もポリミキシン B の前処理により阻害された。LPS の構造ならびに *P. gingivalis* LPS のリピド A の化学構造を考えあわせると、*P. gingivalis* LPS の CD14 分子への結合には、その (GlcNAc)<sub>2</sub> 構造が重要であると考えられた。次に、*P. gingivalis* LPS によるヒト単球の LPS tolerance 誘導の可能性を、同細胞からの IL-6 ならびに IL-8 産生を指標として検討を行った。その結果、低濃度 *P. gingivalis* LPS (0.1ng/ml) で12時間前処理した後、*P. gingivalis* あるいは *E. coli* LPS (いずれも 1 μg/ml) とともに36時間培養することにより、明確な IL-6 産生の抑制、すなわち、LPS tolerance の誘導がみられた。この IL-6 産生の抑制は、その処理時間とともに抑制の程度を増加した。しかしながら、低濃度 *P. gingivalis* LPS 前処理培養中の単球上の CD14 分子の発現量に変化は認めら

れなかった。また、IL-6 産生誘導を抑制する条件下で、*P. gingivalis* LPS により前処理したヒト単球を、同 LPS で二次刺激しても IL-8 産生の抑制はみられなかった。IL-6 および IL-8 の mRNA の発現量を検討した結果、ヒト単球を低濃度 *P. gingivalis* LPS で12時間前処理した後に同 LPS で二次刺激を行っても、LPS 無添加前処理群と比べて、IL-6 及び IL-8 いずれの mRNA の発現量も刺激後 2 時間では抑制は認められなかった。低濃度 *P. gingivalis* LPS で前処理培養によるヒト単球からの  $O_2^-$  産生を検討した結果、高濃度の同 LPS および IFN- $\gamma$  を同時添加し培養したヒト単球からの  $O_2^-$  産生は、*P. gingivalis* LPS 無添加で前処理した場合に比べて有意に増加した。また、この低濃度 *P. gingivalis* LPS 前処理による  $O_2^-$  産生増強作用は抗 CD14 抗体により阻止されることより、この作用は同 LPS と単球の CD14 との結合を介して誘導されることが示唆された。本研究の結果、ヒト単球は、低濃度の *P. gingivalis* LPS と血清依存的に細胞表面上の CD14 分子を介して結合すること、さらに低濃度の同 LPS の持続的な作用により単球の IL-6 産生は低下するが IL-8 および  $O_2^-$  産生は低下しないことが明らかとなった。これらの所見より、歯周病巣局所における *P. gingivalis* 感染により、同菌体 LPS が単球/マクロファージのレセプターを介して持続的に暴露する結果、その細胞機能に種々の変化が生じ、慢性炎症疾患である歯周病の病態が形成されると思われる。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、*Porphyromonas gingivalis* 381株より精製したリポ多糖 (LPS) のヒト単球への結合性を調べるとともに、同 LPS を低濃度で前処理した場合のヒト単球機能の調節作用を、IL-6、IL-8 および活性酸素の各産生性について検討したものである。

その結果、*P. gingivalis* LPS は低濃度において血清依存的にヒト単球細胞表面上に発現した CD14 分子を介して結合すること、同 LPS 前処理は IL-6 産生性を低下させるが IL-8 産生性は低下させないこと、さらに活性酸素産生性は逆に亢進させることが明らかとなった。これらの所見から、*P. gingivalis* 感染により、同菌体 LPS がヒト単球のレセプターを介して持続的に作用すると、その細胞機能に変化を生じる可能性が示唆された。

以上の業績は、歯周病原性細菌の一つである *P. gingivalis* の LPS に対する免疫応答の所見を解析する上で新たな知見を提示したものであり、博士 (歯学) の学位請求に値するものとする。