

Title	歯周炎患者の基本治療前後における抗-Porphyromonas gingivalis 免疫応答とその機序
Author(s)	三好, 美貴
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40095">https://hdl.handle.net/11094/40095</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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	三好美貴
博士の専攻分野の名称	博士(歯学)
学位記番号	第13070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	歯周炎患者の基本治療前後における抗- <i>Porphyromonas gingivalis</i> 免疫応答とその機序
論文審査委員	(主査) 教授 岡田 宏  (副査) 教授 祖父江鎮雄 助教授 小川 知彦 講師 埴岡 隆

#### 論文内容の要旨

辺縁性歯周炎は、歯肉縁下プラーク中の細菌に起因する慢性炎症疾患であり、その発症と進行には、歯周病原性細菌に対する宿主の生体応答が関与していると考えられている。しかし、個々の歯周炎患者の歯周病原性細菌に対する詳細な細胞性、体液性免疫応答ならびに歯周治療によるその応答変化については、いまだ十分に解明されていない。現在、グラム陰性嫌気性細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) は、成人性歯周炎患者の歯周ポケットに多く検出され、主たる歯周病原性細菌の一つであると考えられている。そこで本研究では、大阪大学歯学部附属病院歯周病診療室を受診し成人性歯周炎と診断され、実験参加の承諾を得た48名の患者の基本治療前後における歯周ポケット内の *P. g.* 感染の実態と *P. g.* に対する免疫応答の変動とを比較検討し、なかでも成人性歯周炎患者に高頻度に検出されたTリンパ球の *P. g.* に対する増殖応答の機序について解析することにより *P. g.* に対する免疫応答の歯周炎への関わりを明らかにしようとした。歯周炎患者から Ramfjord の6歯を対象に臨床評価を行い、初診時と基本治療終了後1ヶ月時の再評価時を比較検討した。臨床所見は著しく改善され、すべての臨床指標は治療後有意に低い値を示した。また、初診時に最深のポケット2部位から初診時と再評価時にペーパーポイント法にて採取した歯肉縁下プラーク中の *P. g.* を Polymerase Chain Reaction (PCR) 法にて検出した。個々の被験者の被験2部位のうち、多くの *P. g.* が検出された部位を対象に基本治療前後での歯周ポケット内の *P. g.* 菌体数を比較したところ、初診時には  $10^6$  相当以上の *P. g.* が検出された被験者は45名中17名、 $10^1$  相当以下の *P. g.* が検出された被験者は7名に過ぎなかったのに対し、再評価時には  $10^6$  相当以上の *P. g.* が検出された被験者は11名、 $10^1$  相当以下の *P. g.* が検出された被験者は25名に増加した。そこで、歯周ポケット内で検出される *P. g.* の変動と全身の免疫応答の変動との関係を明らかにするために、これらの患者の末梢血中の単核球を用いて、*P. g.* 凍結乾燥菌体、*P. g.* 超音波破碎菌体成分(SE)、あるいは代表的な表面抗原の一つである fimbriae に対する増殖応答を *in vitro* で検討した。その結果、最も多くの検体が SE に対して増殖応答を示し、さらに基本治療前後でその応答性に著明な変動は認められなかった。また、健常人群では、SE に対する増殖応答の平均値は患者群に比べて有意に低い値を示した。一方、患者血清中の抗 *P. g.* IgG 抗体価を ELISA 法にて検討したところ、*P. g.* 菌体数の変動と同様に再評価時にその平均値は有意に減少した。以上の結果から、*P. g.* に対する末梢血中の単核球の増殖応答は抗体産生応答とは異なり、臨床所見が改善され菌体数が減少した後も亢進した状態が持続していることが判明した。このことから、抗原感作の有無に関わらず特定の TCR  $\beta$  鎖可変領域 (TCR V $\beta$ ) を有する Tリンパ球を活性化し、増殖応答を誘導するスーパー抗原様因子が

SE中に存在することが考えられる。そこで、高増殖応答を示す歯周炎患者由来の末梢血中のTリンパ球を用いて、SEによる刺激で増殖したTリンパ球に発現される22種類のTCR V $\beta$ の発現パターンをRT-PCR法にて検討した。無刺激培養と比較して、SEによる刺激により増殖したTリンパ球では、V $\beta$ メッセンジャーRNAの発現パターンに変動は認められたものの、各被験者間で共通した変動は認められず、SEの刺激能はスーパー抗原に依拠するものではないことが判明した。次に、如何なる細胞がSEにより誘導される増殖応答を担っているのかを検討する目的で、抗体添加による増殖阻害実験を試みた。その結果、抗HLA-DR抗体および抗CD4抗体が特異的にSEにより誘導される増殖応答を抑制し、さらに、精製CD4陽性Tリンパ球が、抗原提示細胞（APC）存在下にSEに対して増殖応答を示した。これより、この増殖応答は、MHCクラスII分子拘束性にCD4陽性Tリンパ球が、*P. g.*由来抗原を認識して誘導された抗原特異的な反応であることが明らかとなった。また、SEによる刺激により増殖したTリンパ球が発現しているCD45アイソフォームをフローサイトメトリーにより解析したところ、CD45RO陽性Tリンパ球が有意に増加した。すなわち、炎症歯肉組織中にみられる活性化Tリンパ球と同様のCD45アイソフォームを発現するTリンパ球が*P. g.*由来抗原による刺激で誘導されることが明らかとなった。前述の結果より、SE中に含有される刺激因子はスーパー抗原ではないことが判明したことから、TCR $\alpha\beta$ 両鎖で抗原特異性が規定されるTリンパ球がSEに対する応答性を規定しているものと考えられる。一方、Tリンパ球の効率の良い活性化にはTCRを介したシグナルに加え、TCR以外の細胞表面分子を介したシグナル、いわゆる副刺激シグナルが必要であることが知られている。すなわち、SEに対し低増殖応答性がSE中の抗原に対する特異的なTCR陽性Tリンパ球の欠如によるものならば、十分な副刺激存在下でも同Tリンパ球亜集団を持たない被験者には増殖応答は検出されないと考えられる。そこで、SEに対して低増殖応答性を示す被験者由来のTリンパ球をTリンパ球上の副刺激伝達分子に対する抗体である抗CD43、あるいは抗CD73単クローン抗体存在下にSEとともに培養したところ増殖応答が認められた。このことより、各被験者の応答性の違いは、特定のTリンパ球亜集団の有無ではなくSEによる刺激に反応し得るTCRを有するTリンパ球亜集団の存在比率あるいは個々のTリンパ球の増殖応答の違いに起因することが示された。以上の結果より、歯周病原性細菌*P. g.*に対する細胞性免疫応答は、体液性免疫応答とは異なり、基本治療により抗原量が減少し局所の炎症状態が改善された後にもメモリー応答として検出されることが明らかとなった。また、SEに対してMHCクラスII分子拘束性CD4陽性Tリンパ球が反応して起こる増殖応答は、特有のTCR V $\beta$ 陽性Tリンパ球亜集団を活性化することで知られるスーパー抗原的な刺激によるものではなく、反応性Tリンパ球の存在比率あるいは個々のTリンパ球の増殖応答の違いに依拠している可能性が示唆された。

#### 論文審査の結果の要旨

本論文は歯周病患者における*Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*)に対する生体の免疫応答を治療の前後で比較検討したものである。即ち、歯周ポケットにおける*P. g.*感染の実態との相関で免疫応答を解析し、*P. g.*に対する細胞性免疫応答は治療後も検出され、体液性免疫応答と異なる挙動を示すことを明らかにした。さらに、被験者間での*P. g.*に対するT細胞の増殖応答性の違いが応答T細胞数或いは増殖能の違いに基づく可能性を示唆し、歯周病原性細菌によるT細胞活性化機構に新たな知見をもたらすものと評価した。よって本論文は博士（歯学）の申請に値するものと認める。