

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 環境病理学講座 清水 智子 に

対する最終試験は、主査 三辺 正人 教授、副査 児玉 利朗 教授、
副査 山本 龍生 准教授により、論文内容ならびに関連事項につき口頭試問をもって
行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 三辺 正人

副 査 児玉 利朗

副 査 山本 龍生

論文審査要旨

ヒト歯周炎歯肉を用いたhBD-2およびIL-1 β 発現と 歯周炎の重症度との関連についての研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

環境病理学講座 清水 智子

(指導： 槻木 恵一 教授)

主査 三辺 正人 教授

副査 児玉 利朗 教授

副査 山本 龍生 准教授

論文審査要旨

学位申請論文は、自然免疫応答の初期防御に関与する抗菌性ペプチドである human β -defensin-2(以下、hBD-2)の発現と歯周炎の重症化がどのように影響しているかについて、*in vivo* モデルを用いて検討した結果、慢性歯周炎の重症度の違いにより hBD-2 の発現動態が異なることを示した論文である。

歯肉溝上皮細胞は、病原性微生物の侵入に対して物理的防御機能だけでなく、種々の液性物質の産生による免疫防御反応の役割を担っている。特に初期防御反応に関与する抗菌ペプチドである hBD は Interleukin-1 β (以下、IL-1 β) のような炎症性サイトカインの刺激により誘導され、グラム陰性菌に対し強い抗菌作用を示すことが注目されているが、hBD-2 と歯周炎の重症度との関連性を明らかにするための生態環境を反映した実験モデル系が確立されていない。本論文は、歯周炎の重症度の異なるヒト歯肉を免疫不全ヌードマウスに移植し、歯周病原細菌である *P. gingivalis* (*P. g*) 感染による hBD-2 およびその発現誘導因子である IL-1 β の発現動態を検討し、ヒト歯肉溝再現モデルにおける初期反応性と歯周炎の重症度との関連を明らかにしたものであり、明確性および新規性のある研究目的を有していると評価した。

研究方法の概略は以下の通りである。軽・中等度慢性歯周炎患者 21 名、重度慢性歯周炎患者 19 名より歯肉を採取し、トリミング後に、8 週齢オスのヌードマウスの背中に皮膚弁を形成して、移植した。2 週間後に感染群として *P. g* 菌液を、非感染群として BHI 液体培地液を皮下接種した。2 時間曝露後にサンプリングを行い、real-time PCR 法を用いて hBD-2、IL-1 β のヒト特異的 mRNA 発現の群間差、両マーカーの関連性および歯周炎の重症度と両マーカーの発現パターンについて適切に統計分析を行っている。なお、研究倫理上の配慮がされていることを確認した。

本研究で用いた *in vivo* 移植実験系は、ヒト歯肉の形態的および免疫組織化学的にヒト形質を保存している特徴がある。特に hBD-2 の発現は、歯肉扁平上皮の分化により局在が異なることから、培養歯肉上皮細胞による実験よりも生体に近い現象をとらえることができることから、独創性のある方法である。

結果として、軽・中等度慢性歯周炎歯肉は、*P. g* 感染により hBD-2 mRNA が有意に増加するが、重度慢性歯周炎歯肉では有意な増加は認めなかった。また、*P. g* 感染により、軽・中等度慢性歯周炎の hBD-2 および IL-1 β mRNA 発現量はともに増加し、重度慢性歯周炎ではともに減少し、歯周炎の重症化により、発現パターンが変化することが示された。

従来ヒト歯肉生検組織あるいは、培養細胞を用いた方法においては、健康歯肉と歯周炎歯肉あるいは、歯周炎の病態による hBD-2 の発現には、明確な関

連性が認められず、その不均一性や歯周炎の重症度との関連性は不明であった。本論文では、ヒト歯肉に対する *P. g* 感染刺激による hBD-2 の反応を、よりヒト歯肉溝の環境に類似した条件下で比較できる *in vivo* モデルを用いて歯周炎の重症度と hBD-2 発現の関連性を評価した結果、hBD-2 および IL-1 β の発現パターンが、歯周炎の進行に影響を及ぼしている可能性を示唆したことは、新規性、独創性があり、高く評価できる。また、今後、歯周炎の進行と予後、歯周治療後の治療反応性を予測するリスク判定マーカーとして hBD-2 および IL-1 β が有用である可能性があり、本研究の発展性が期待できる。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、口頭試問を行ったところ十分な回答が得られたことを確認した。さらに、本論文によって得られた新しい知見は、今後の歯周炎の病態解明への貢献が期待でき、歯周病診断学の発展につながるとの結論に至った。そこで、本審査委員会は、申請者が博士（歯学）の学位に十分に値するものと認めた。