

山口 竜亮 論文内容の要旨

主 論 文

Activity of Supragingival Plaque to Induce Toll-Like Receptor 4-Mediated Stimulation is Associated with Cytokine Production by Peripheral Blood Mononuclear Cells.

(歯肉縁上プラークの Toll-like receptor 4 を介する刺激誘導作用は、末梢血単核球によるサイトカイン産生と関連する。)

(山口 竜亮、吉村 篤利、吉岡 英将、金子 高士、原 宜興)

(Journal of Periodontology、掲載時期は未定)
〔ページ数未定〕

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：原 宜興 教授)

緒 言

歯面に付着したデンタルプラークバイオフィルムは歯肉炎、歯周炎の主要な病原因子である。デンタルプラークから遊離する細菌やその菌体成分は、Toll-like receptor (TLR)2 や TLR4 などのパターン認識レセプターによって認識され、歯周組織に備わる免疫系を活性化し、炎症反応を拡大する。我々は、これまでに歯肉縁上プラークの TLR4 を介する刺激誘導作用が、歯肉縁上プラーク採取部位のプラークスコア、プロービング時の出血(BOP)と正の相関を示し、TLR2 を介する刺激誘導作用が、ポケット深さ(PD)および臨床的アタッチメントレベル(CAL)と負の相関を示すことを報告した。一方で、TLR2 および TLR4 からの刺激は、それぞれ異なるパターンの炎症性サイトカインおよび抗炎症性サイトカインを誘導することが報告されている。そこで我々は、過去の報告における TLR2 および TLR4 を介する刺激誘導作用と歯周病臨床指数との関連性は、歯肉縁上プラークが、TLR2 および TLR4 を介して産生するサイトカインの産生レベルの違いによるものではないかと推測した。本研究では、末梢血単核球を歯肉縁上プラークで刺激し、誘導されるサイトカインの産生量と歯肉縁上プラークの TLR2 および TLR4 を介する刺激誘導作用、そして歯周炎臨床指数との関連性について解析した。

対象と方法

長崎大学病院むし歯・歯周病治療室受診患者で、研究参加に同意の得られた 125 人の上顎右側中切歯から歯肉縁上プラークを採取し、被験部位のプラーク指数(PII)、プロービング時の出血(BOP)、ポケットの深さ(PD)、臨床的アタッチメントレベル(CAL)を記録した。TLR2 および TLR4 を介する刺激作用は、CHO 細胞由来 NF- κ B 依存性レポーター細胞(CHO/CD14、7.19/TLR2)を歯肉縁上プラーク並びに標準リガンド(高純度 *Escherichia coli* 由来 LPS および合成リポペプチド MALP-2)で刺激し、各プラークサンプルにより誘導された CD25 発現量を標準リガンドにより誘導された発現量と対比することにより算出した。また、健常者の末梢血単核球を歯肉縁上プラークサンプルにて刺激し、炎症性サイトカイン TNF- α 、IL-6、IL-8 および抗炎症性サイトカイン IL-10 の産生量を ELISA 法にて測定した。サイトカイン産生抑制試験においては、培養液中に抗 TLR2 抗体、抗 TLR4 抗体、compound 406 (TLR4 アンタゴニスト)、対照抗体として抗 CD11c 抗体を添加した。

結 果

歯肉縁上プラーク刺激による末梢血単核球からのサイトカイン産生量は、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10 のいずれにおいても歯肉縁上プラークの TLR4 を介する刺激誘導作用と正の相関を示し、TLR2 を介する刺激誘導作用とは、有意な相関を示さなかった。歯肉縁上プラークの TLR2 を介する刺激誘導作用に対する TLR4 を介する刺激誘導作用の比は、いずれのサイトカインの産生量とも正の相関を示した。サイトカイン産生抑制試験においては、抗 TLR4 抗体および compound 406 の添加により、いずれのサイトカインの産生も著明に阻害された。また、歯肉縁上プラークが誘導するサイトカイン産生量は、プラーク採取部位の PII、BOP、PD、CAL と正の相関を示した。

考 察

歯肉縁上プラークの刺激により末梢血単核球から誘導される炎症性および抗炎症性サイトカインの産生は、抗 TLR4 抗体および compound 406 によって著明に抑制されたことから、主に TLR4 を介していると考えられる。また、歯肉縁上プラークの TLR2 を介する刺激誘導作用に対する TLR4 を介する刺激誘導作用の比も、サイトカイン産生量と正の相関を示したことから、歯肉縁上プラーク中の TLR4 によって認識される菌体成分の組成が、サイトカインの産生に影響を与えたと考えられる。歯肉縁上プラークにより誘導されたサイトカイン産生量が、プラーク採取部位の臨床指数と相関していたことから、歯肉縁上プラークの TLR4 を介する刺激誘導作用が、歯周組織の状態に影響を与えていることが示唆された。