

学位研究紹介

ヒト冠状動脈血管内皮細胞における *Porphyromonas gingivalis* 抗原および炎症性サイトカインの及ぼす影響 Effects of *Porphyromonas gingivalis* antigens and proinflammatory cytokines on human coronary artery endothelial cells

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野

本田 朋之

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Tomoyuki Honda

【目 的】

近年、歯周炎が冠動脈性心疾患の原因である動脈硬化症のリスク因子となり得ることが疫学調査や動物実験により示唆されている。しかし、両者を関連付けるメカニズムについては未だ十分に解明されていない。動脈硬化症は単純なコレステロールの動脈壁への沈着により生ずるものではなく、単球・リンパ球の浸潤とそれらが産生するサイトカインなどによる炎症反応として捉えられており、その誘発・増悪因子として微生物感染の関与も明らかとなっている。我々は以前、歯周炎患者における血清中の炎症関連マーカーについて歯周治療前後および健常者のそれと比較検討した。その結果、高感度CRP値が健常者よりも高く、歯周治療により改善を認めたことを示し、歯周炎が全身の炎症状態に影響を及ぼしている可能性を示唆した¹⁾。今回我々は、歯周炎の動脈硬化症への関与として歯周組織局所における感染と炎症反応が全身循環を経て血管内皮に傷害を与える可能性に着目し、歯周病原細菌成分および炎症性サイトカインのヒト冠状動脈血管内皮細胞に及ぼす影響について検討した²⁾。

【材料および方法】

ヒト冠状動脈血管内皮細胞 (HCAEC) を増殖因子 EGM-2MV を添加した EBM-2 培地にて継代 (8-12 代) 培養し実験に供した。HCAEC を *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 由来細菌抗原である

lipopolysaccharide, outer membrane protein, GroEL および炎症性サイトカイン TNF- α , IL-1 β にて刺激後、接着分子 intercellular adhesion molecule (ICAM) -1, vascular cell adhesion molecule (VCAM) -1 の発現を Cell-ELISA 法にて、サイトカイン IL-6 およびケモカイン MCP-1 の産生を ELISA 法にて測定した。また、細菌抗原認識分子 toll-like receptor 4 (TLR4), TLR2 の mRNA 発現を RT-PCR 法および Real-time PCR 法にて解析した。

【結 果】

- ① *P. gingivalis* 抗原および炎症性サイトカイン刺激の濃度依存的に ICAM-1 発現の上昇が認められた。炎症性サイトカイン刺激の濃度依存的に VCAM-1 発現の上昇が認められたが、*P. gingivalis* 抗原刺激による VCAM-1 発現への影響は認められなかった。(図 1)
- ② 炎症性サイトカイン刺激の濃度依存的に IL-6, MCP-1 産生の増加が認められた。特に IL-1 刺激は IL-6 産生に対して顕著な影響を与えた。しかし、*P. gingivalis* 抗原刺激による IL-6, MCP-1 産生への影響は認められなかった。(図 1)
- ③ HCAEC において TLR4 の恒常的な発現が認められた。また、炎症性サイトカイン刺激により TLR2 発現が誘導された。(図 2)

【考察および結論】

炎症性サイトカインは血管内皮細胞の接着分子発現およびサイトカイン・ケモカイン産生に対し著明な影響を及ぼし、*P. gingivalis* 抗原においてもその影響が認められた。今回の実験で血管内皮細胞が反応を示した刺激濃度は、いずれも歯周炎患者における血中濃度と比較すると高濃度である。しかし、濃度依存的な反応がみられたことを考慮すると、低濃度においても血管内皮細胞に影響を与えている可能性は考えられ、また種々の炎症性サイトカインや細菌成分が血管内皮細胞に対し複合的に作用することで相乗的な効果が生ずる可能性も考えられる。

歯周組織における感染が全身の炎症状態に影響を与えることにより、血管内皮への傷害とそれに続く動脈硬化に関与する可能性が示唆された。

【参 考 文 献】

1) Yamazaki K, Honda T, Oda T, Ueki-Maruyama K, Nakajima T, Yoshie H and Seymour GJ: Effect of periodontal treatment on the C-reactive protein and proinflammatory cytokine levels in

Japanese periodontitis patients. J Periodontal Res, 40: 53-58, 2005.

2) Honda T, Oda T, Yoshie H and Yamazaki K: Effects of *Porphyromonas gingivalis* antigens and proinflammatory cytokines on human coronary artery endothelial cells. Oral Microbiol Immunol, 20: 82-88, 2005.

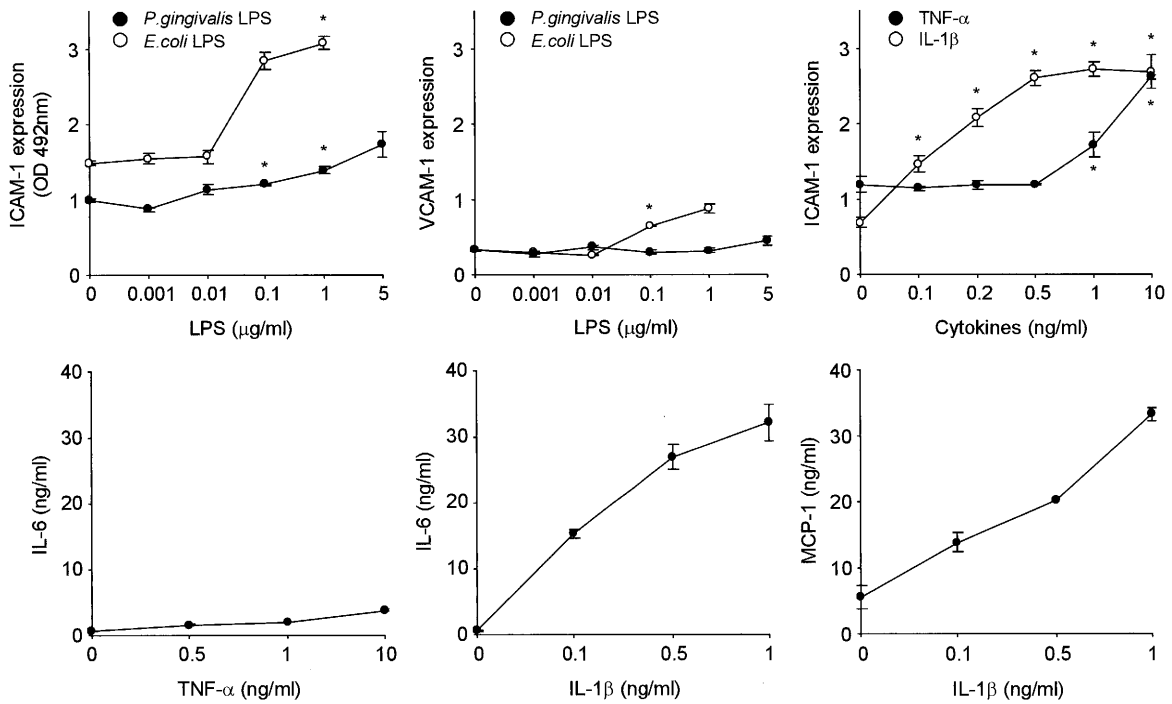


図1 冠状動脈血管内皮細胞における接着分子発現およびサイトカイン産生
Values represent the mean ± standard error. *: P<0.05 vs. control (paired t-test).

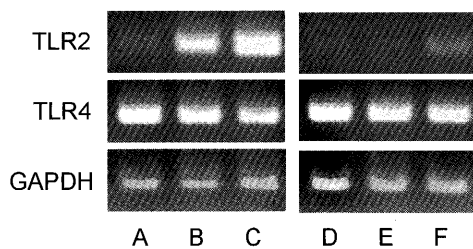


図2 冠状動脈血管内皮細胞におけるTLR2およびTLR4発現
A, D: Control. B: TNF-α (1ng/mL). C: IL-1β (1ng/mL). E: *P. gingivalis* LPS (100ng/mL). F: *E. coli* LPS (10ng/mL).