

## 歯周病での炎症反応における酸化 LDL の寄与

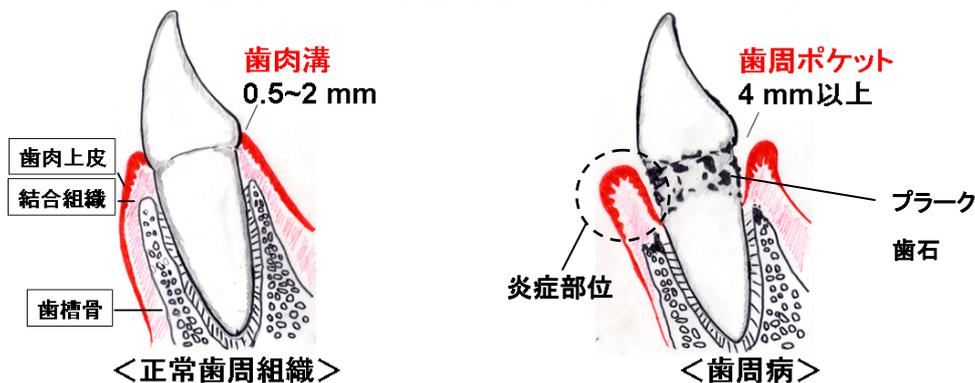
昭和大学大学院歯学研究科 4 年（歯・歯周病学教室、薬・生物化学教室）

長濱 優

私は昭和大学大学院で歯周病学教室、生物化学教室に所属し、共同研究を進めています。歯学研究科の学生の中では珍しく他研究科で研究を行うことになり、はじめは戸惑いましたが、今では臨床治療だけでなく生命科学の中で歯科をテーマにした研究活動をし、歯周病に関して視野を広げる事が出来たことに感謝しています。

成人の 8 割が歯周病に罹患していると言われています。歯周病とは、歯垢（デンタルプラーク）の蓄積や *Porphyomonas gingivalis*、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* などといった歯周病原菌の感染により、歯を支える歯ぐき（歯肉）、顎の骨（歯槽骨）が炎症を起こし破壊される疾患です。その結果、歯の喪失につながる病気で、主な歯の喪失原因の 1 つになっています（図 1）。

＜図 1＞ 歯周病における歯周組織の変化



近年、歯周病が生活習慣病の 1 つとして様々な病態に関与していることが注目され、研究が進められています。例えば、糖尿病患者において歯周治療を行うと HbA1c が減少する、血糖値をコントロールすると歯周病が治り易いなど、糖尿病との関連性が指摘されています。また動脈硬化への関わりでは、動脈硬化巣から歯周病原菌の一部が PCR で検出されたなどの報告があります。このように歯周病は歯周組織という局所に限定した病気ではなく、全身疾患と相互に影響を合っていることを示唆する疫学データが蓄積しています。しかし、その詳しいメカニズムについては不明な点が多く残されています。

生物化学研究室ではこれまでに、動脈硬化症の危険因子として知られる酸化 LDL が動脈硬化巣や循環血中に存在することを報告してきました。さらに歯周病学教室との共同研究により、歯周ポケット内に存在する歯肉溝滲出液（gingival crevicular fluid:GCF）中にも酸化 LDL が存在し、さらにそれは血中よりも 17 倍高値であることを見出しました（Sakiyama Y, et al. *J. Periodontal Res.* (2010) 45, 216-222）。

我々は、歯周組織における炎症惹起に酸化 LDL が関与するのではないかと考え、酸化 LDL が歯周組織においてどのような影響を及ぼすかについて調べるために、細菌や異物の侵入部位である歯肉上皮細胞を用いて検討しました。

まず、健常者から末梢血を採血し、血漿からLDLを分画後、銅イオン存在下で 37°C、3 時間インキュベーションし、酸化LDLを調製しました。そして歯肉上皮細胞 (Ca9-22 細胞株およびヒト口腔内ケラチノサイト) を酸化LDL存在下で 6 時間刺激した後、培養上清を回収して炎症メディエーターのIL-8 やIL-1 $\beta$ 、歯槽骨破壊に関与するPGE<sub>2</sub>をELISAで測定しました。その結果、未刺激の細胞と比較して酸化LDL刺激によりIL-8 が5~10 倍、IL-1 $\beta$ が約3 倍、PGE<sub>2</sub>は1.5~3 倍に上昇することが確認されました。さらに、酸化LDL刺激後の細胞を回収してWestern blotを行った結果、PGE<sub>2</sub>の産生に関与するcyclooxygenase-2 (COX-2)と、microsomal PGE synthase-1 (mPGES1)の発現がそれぞれ5 倍、3 倍に誘導されたことが確認されました。

様々な細胞でIL-8 の産生に関わるとされているNF- $\kappa$ Bの関与について調べた結果、酸化LDL刺激を行った細胞ではLuciferase assayによってNF- $\kappa$ B転写活性が上昇することが確認されました。Western blotによりこの細胞でのInhibitor  $\kappa$ B $\alpha$  (I $\kappa$ B $\alpha$ )量の減少が認められたことから、酸化LDLによって引き起こされる炎症性メディエーター産生の誘導はNF- $\kappa$ Bを介する反応であることが示唆されました。そこで、NF- $\kappa$ B阻害剤(BAY 11-7082)を前処理して同様に酸化LDL刺激したところ、IL-8 の産生は未刺激レベルまで抑制されました。一方、PGE<sub>2</sub>産生の抑制は部分的であったことから、PGE<sub>2</sub>産生におけるNF- $\kappa$ Bの関与は部分的であると考えられました。以上の結果から、歯肉上皮細胞においてGCF中の酸化LDLがNF- $\kappa$ Bを介してIL-1 $\beta$ 、IL-8、PGE<sub>2</sub>の産生を上昇させ、歯周病の進行に関与することが強く示唆されました。

マクロファージや血管内皮細胞では、CD36 が酸化 LDL を認識することが報告されており、酸化 LDL 刺激によって発現が上昇することが知られています。歯肉上皮細胞でも CD36 のタンパク質発現が確認されましたが、酸化 LDL 刺激によりその発現は減少する傾向にありました。このことから、動脈硬化におけるマクロファージや血管内皮細胞での炎症反応とは異なった反応機構が存在する可能性が示唆されます。また一方で、歯周病原菌である *P.gingivalis* の LPS が炎症惹起、増悪に関与するといった報告も多くあります。このようなことから、今後は歯肉上皮における酸化 LDL の受容体や、リガンドとなる酸化 LDL 中の成分、他の転写因子、LPS 存在下での酸化 LDL の影響についてさらなる検討を進めて行く予定です。

今回の研究成果は、*Biochem Biophys Res Commun* 誌に受理されました(Nagahama Y, Obama T, Usui M, Kanazawa Y, Iwamoto S, Suzuki K, Miyazaki A, Yamaguchi T, Yamamoto M and Itabe H, Oxidized low-density lipoprotein-induced periodontal inflammation is associated with the up-regulation of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin synthase 1 in human gingival epithelial cells. (2011) *in press*)。また日本歯周病学会と日本生化学会において発表しました。