

(様式3)

平成 25年 12月 13日

学位論文内容の要旨

| | | | | |
|---|---------|----|------|---|
| 受付番号 | 第 547 号 | 氏名 | 渡辺 敦 | 印 |
| 論文題名 レチノイン酸はヒト歯肉上皮細胞からの抗菌ペプチド産生を誘導する | | | | |
| 指導教員 廣瀬 公治 | | | | |

(論文内容の要旨2, 000字以内)

ビタミン A の代謝活性物であるレチノイン酸は生体内において、細胞の増殖・分化、生体の恒常性維持、形態形成に関わる重要な脂溶性ビタミンで、抗体産生や T 細胞の活性化を促進するなど免疫機能に対し多彩な機能を発揮していることが知られている。一方、ビタミン A の摂取不足は、口腔粘膜の過角化や易感染症を引き起こすことが知られている。しかしながら、口腔の免疫機能に対するビタミン A の関与を調べた報告は少ない。

口腔の免疫機能を担当しているもののひとつに自然免疫がある。その液性因子としてリゾチーム、ペルオキシダーゼ、ラクトフェリン、免疫グロブリンなどがある。しかし最近では、自然免疫の抗菌ペプチドファミリーであるディフェンシンやカテリシジンが注目されている。LL-37 は唯一のカテリシジンファミリーであり、口腔内に存在する歯周病原細菌に特に強い抗菌活性のあることが示されている。また、グラム陰性菌のリポ多糖の中和作用や、好中球、単球、T 細胞などの細胞遊走能の活性化、血管新生促進による創傷治癒に関与するなど、細菌によって引き起こされた炎症反応を軽減すると同時に好中球の機能を補助するなど、LL-37 は口腔における防御反応に重要な役割を果たしているものと考えられる。

そこで本研究では、レチノイン酸の持つ口腔の自然免疫に及ぼす作用を検索するために、オールトランス型のレチノイン酸(ATRA)を用い、ヒト歯肉上皮細胞である Ca9-22 に作用させ、その効果を抗菌ペプチドである LL-37 の mRNA 発現およびそのタンパク質の産生を指標として検索を行った。さらに、その作用発現の機構を調べるために、レチノイン酸の作用発現に関わる核内レセプターであるレチノイン酸受容体(RAR)とレチノイドX受容体(RXR)についても併せて検討を行った。

Ca9-22 からの LL-37 の mRNA は ATRA 添加濃度依存的にその発現が促進された。次に、ATRA による Ca9-22 からの LL-37 の産生動態を、その時間経過について検討した。すなわち、10 μ M の ATRA を Ca9-22 に添加し、1 時間から 24 時間培養継続した Ca9-22 における LL-37 の mRNA 発現を検討した。その結果、LL-37 の mRNA は時間依存的に促進され、24 時間で最大となることを、RT-PCR で確認した。

このように ATRA が Ca9-22 からの LL-37 mRNA 発現を促進することが認められたことから、培養上清中への LL-37 タンパクの産生も促進しているかを確認するため、ELISA 法により検討した。その結果、ATRA の濃度 1 μ M で対照に比べ約 1.3 倍の LL-37 の産生促進が認められた。このことから、ATRA は口腔上皮細胞における自然免疫賦活要因として機能する可能性が示唆された。

一方、ATRA による歯肉上皮細胞からの LL-37 の産生促進が、どのような経路を介しているかを検討するために、レチノイン酸受容体である RAR と RXR を指標として real time PCR によりその状況を検討した。その結果、ATRA 添加後 1 時間では添加濃度 2 μ M で、24 時間では 2 μ M および 5 μ M で RAR α の mRNA 発現が対照と比べ約 3.5 倍促進された。同様に RAR β について検討したところ、ATRA 添加後 1 時間では有意な差は認められなかったが、24 時間では mRNA の発現が促進される傾向が認められた。さらに、RAR とヘテロダイマーを構成する RXR についても同様に検討したところ、RXR α の mRNA 発現に対し、ATRA は何ら影響を与えなかったが、RXR β においては ATRA 添加後 24 時間において、その mRNA 発現が対照に比べ約 1.5 倍促進することが示された。このことから、歯肉上皮細胞における ATRA の作用発現は RAR α , β と RXR β とのヘテロダイマーが LL-37 遺伝子のプロモーター領域に結合することにより制御されている可能性が示された。

以上の結果より、ATRA が口腔の自然免疫系に有益な作用を持つことが示されたことから、良好な口腔内環境の維持のためには適切なビタミン A の摂取が必要であることが示唆され、口腔保健と栄養との関連を考察する上で興味ある。