

Spry2がPorphyromonas gingivalis LPS刺激マクロファージの分化に及ぼす影響に関する研究

後村, 亮

<https://hdl.handle.net/2324/1654778>

出版情報：九州大学, 2015, 博士（歯学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）



氏 名 : 後村 亮

論 文 名 : Spry2 が *Porphyromonas gingivalis* LPS 刺激マクロファージの分化に及ぼす影響に関する研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

歯周病は歯周病細菌の感染によって惹起される慢性炎症で、歯槽骨など歯の支持組織の破壊により歯の喪失の原因となる疾患である。好中球の病巣への流入により生体内の異物を排除する「炎症初期過程」では炎症反応を拡大し組織破壊を惹き起す M1 (炎症性) マクロファージが主体となり、それに続くアポトーシス細胞を除去し組織を修復へと導く「炎症収束過程」では M2 (抗炎症性) マクロファージが優位となる。すなわち、マクロファージは破壊と再生の両面に関与しており、炎症と組織再生のインターフェースにおいて重要な役割を担っている。現在では、さまざまな歯周組織再生療法が臨床応用されているが、歯周組織は歯が粘膜を貫通し体外と交通するという、他の器官と比較しても非常に特殊な環境にあり、常に口腔細菌による感染の危険性に曝されている。一般に再生過程は炎症により強く阻害されるため歯周組織の再生途上で再感染が起き、再生治療が奏効しないケースも少なくない。

Sprouty2 (Spry2) は、古典的 mitogen-activated protein kinase (MAPK) である extracellular signal-regulated kinase (ERK) シグナルにより転写誘導される ERK 下流シグナルのネガティブフィードバック制御因子であり、fibroblast growth factor (FGF) 誘導の ERK シグナルを制御する一方、epidermal growth factor (EGF) 誘導の ERK シグナルに対しては影響を及ぼさないことが報告されている。これまでに私たちは、Spry2 を抑制し basic FGF (bFGF) と EGF で同時刺激することで、歯肉上皮細胞の細胞増殖が抑制されるとともに、骨芽細胞の細胞増殖と骨分化が誘導され、さらに歯根膜細胞の増殖と遊走が亢進することを報告した。すなわち理想的な再生形態である、上皮の根尖側への侵入を防ぎ、歯根膜を介した結合組織性付着と骨再生が得られる可能性があることから、Spry2 は新たな歯周組織再生療法を確立する上で標的分子となる可能性を見出した。しかしながら、Spry2 は単球/マクロファージ系細胞にも発現しているものの、その抑制がマクロファージの表現系に及ぼす影響は明らかでない。そこで、本研究では、Spry2 の抑制が炎症と再生を制御するマクロファージに及ぼす影響について *in vitro* における検討を行った。

実験にはマウスマクロファージ様細胞株 J774.1 を用い、歯周病細菌である *Porphyromonas gingivalis* (Pg) の lipopolysaccharide (LPS) と interferon gamma (IFN γ) で細胞を刺激した。通常、マクロファージはこれらの刺激により M1 細胞の表現型を示すが、siRNA で Spry2 を抑制すると J774.1 細胞では inducible nitric oxide synthase (iNOS) のタンパク質発現が抑制されるとともに arginase

活性が上昇した。また、Spry2 siRNA 導入マクロファージでは、炎症性サイトカインである interleukin-12 (IL) -12、IL-6 の産生減少、および抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生亢進が確認され、さらに、増殖因子である bFGF、EGF、platelet-derived growth factor (PDGF)、vascular endothelial growth factor (VEGF) の mRNA 発現が上昇した。以上のことから、通常マクロファージは歯周病細菌の感染により M1 型に分化するが、siRNA で Spry2 を抑制すると M2 型へ分化誘導されることが示唆された。

そのメカニズムとして、マクロファージで Spry2 が抑制されると低分子量 G タンパク質 Rac1 の活性化を介して efferocytosis (アポトーシス細胞の認識と除去) が促進し M2 型に分化誘導されることが、さらに、Spry2 の抑制が phosphoinositide 3-kinase (PI3K)、AKT のリン酸化を介して inhibitor kappa B (IκB) の分解と nuclear factor-kappa B (NF-κB) のリン酸化を抑制することにより、M1 型への分化が抑制されることが解明された。

以上のことから臨床応用に向けて、歯周炎による歯槽骨吸収部位に対して Spry2 阻害剤を使用すると、M2 マクロファージへの分化を経て、炎症状態の収束・創傷治癒が誘導され、歯周組織再生が促進されることが示唆された。