

ポルフィロモナス ジンジバリス菌由来のリポ多糖による E-カドヘリンの発現低下は歯肉上皮バリア機能を抑制する

柚島 眞里¹、近澤 貴士¹、柴崎 顕一郎¹、村上 伸也²

1) ライオン株式会社 研究開発本部オーラルケア研究所

2) 大阪大学 大学院歯学研究科 歯周病分子病態学

背景・目的

歯周病はバイオフィルムの形成を発端とし、病原因子に対する生体防御機能が破綻することにより歯周組織の破壊をおこすと言われている。歯肉上皮は、病原因子の侵入に対して最前線に位置することで物理的なバリアとして機能している。E-カドヘリン(E-cadherin:E-cad)は歯肉上皮細胞に発現し細胞間接着を構成する因子の1つで、歯肉上皮の物理的バリア機能の維持に重要な役割を担っている。近年、歯周病患者の歯肉上皮において、このE-cadの発現が減少していることが明らかになっている。そこで、本研究の目的は歯周病の病原因子の1つである、ポルフィロモナス ジンジバリス菌由来のリポ多糖(*P.gingivalis*-LPS)がE-cadと歯肉上皮の物理的バリア機能に与える影響について検討し、これらの変化が歯肉の炎症反応にどのような影響を与えるかを明らかにすることである。さらに、酸化ストレスは上皮組織においてE-cadの発現を低下させることが報告されていることから、抗酸化物質であるビタミンE(VE)が*P.gingivalis*-LPSによる歯肉上皮のE-cad発現変化並びにバリア機能変化に与える影響についても検討した。

材料・方法

実験には不死化ヒト歯肉上皮細胞株(歯肉上皮細胞)を専用培地でコンフルエント(一層)になるまで培養したものをを用いた。この歯肉上皮細胞に①無処置、②*P.gingivalis*-LPS処置、③*P.gingivalis*-LPS+VE処置を施し、以下の実験を行った。E-cad発現変化解析は①~③処置後、E-cadを蛍光免疫染色し、プレートリーダーにて蛍光強度を測定することで実施した。歯肉上皮バリア機能及び炎症反応の評価には、トランスウェルプレートの上層に予め①~③を施した歯肉上皮細胞、下層に炎症担当細胞(マクロファージ)を培養したモデルを用いて、*P.gingivalis*-LPSを透過物質とした透過実験を実施した(Fig.1)。バリア機能は、*P.gingivalis*-LPS(透過物質)の下層への透過性を下層培地中の*P.gingivalis*-LPS濃度(エンドトキシン活性)をLAL試験法で測定することで評価した。炎症反応は、下層培地中の炎症性サイトカイン(TNF- α)濃度をELISA法で測定することで評価した。

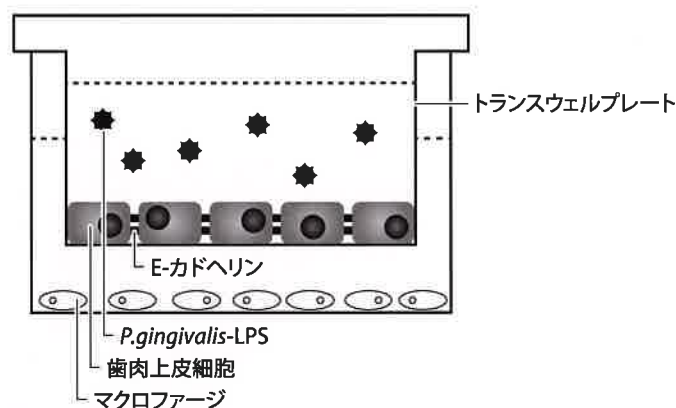


Fig.1 歯肉上皮細胞と炎症担当細胞の共培養モデル

結果

E-cad発現変化解析の結果、*P.gingivalis*-LPS処置(②)により無処置(①)と比較して有意に歯肉上皮細胞におけるE-cad発現が低下したが、VEを*P.gingivalis*-LPSと同時に添加(③)することで、E-cad発現低下を有意に抑制することが明らかとなった(Fig.2)。透過実験の結果、*P.gingivalis*-LPS処置(②)を施した歯肉上皮細胞では無処置(①)の歯肉上皮細胞と比較して下層への*P.gingivalis*-LPS透過量が有意に増加すると共に(Fig.3-A)、下層培地中のTNF- α 濃度が増加していた(Fig.3-B)。VEを*P.gingivalis*-LPSと同時に添加(③)した歯肉上皮細胞は*P.gingivalis*-LPS処置(②)の歯肉上皮細胞と比較して有意に*P.gingivalis*-LPSの透過量が減少、下層培地中のTNF- α 濃度が低下した(Fig.3-A, B)。

結論

歯周病の病原因子*P.gingivalis*-LPSは歯肉上皮のE-cad発現を低下させることで、歯肉上皮のバリア機能を低下させることが明らかとなった。また、歯肉上皮のバリア機能が低下することで、*P.gingivalis*-LPSを始めとする病原因子の上皮下への侵入が促進され、歯肉の炎症を誘発することが示唆された。また、VEは*P.gingivalis*-LPSが誘導する上皮バリア機能低下に抵抗し、歯肉の炎症抑制に寄与することが明らかとなった(Fig.4)。

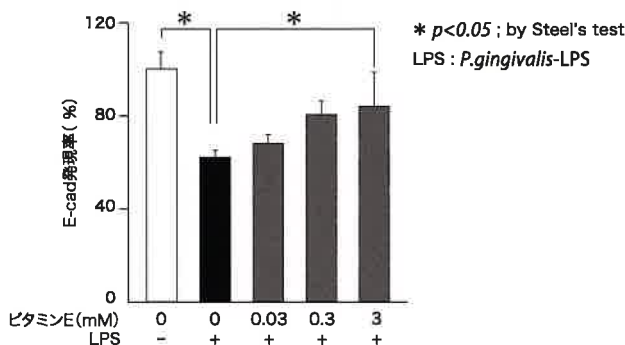


Fig.2 *P.gingivalis*-LPS及びVEが歯肉上皮細胞のE-cad発現に与える影響について

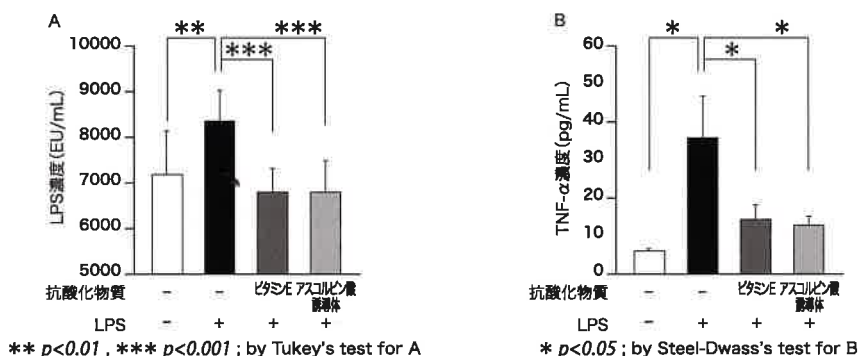


Fig.3. *P.gingivalis*-LPS及びビタミンEが歯肉上皮バリア機能(A)及び上皮下炎症反応(B)に与える影響について

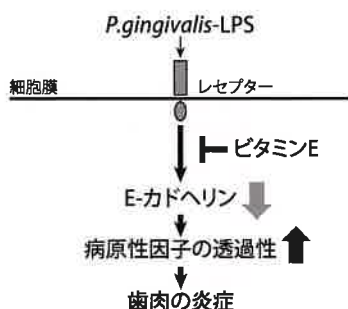


Fig.4 *P.gingivalis*-LPS及びVEがE-cad発現変化を誘導するメカニズム仮説