

学位研究紹介

細菌由来のメタボライトは GPR40 シグナリングを介して歯周病原細菌に誘導される歯肉上皮バリア機能の低下を抑制する
A bacterial metabolite ameliorates periodontal pathogen-induced gingival epithelial barrier disruption via GPR40 signaling

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

原 実生

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Science

Miki Hara

【背景および目的】

微生物が代謝の過程で産生する中間代謝化合物（メタボライト）が様々な生物学的活性を有し、宿主の細胞機能や疾患の発症に関わることが知られている。10-Hydroxy-*cis*-12-octadecenoic acid (HYA) は、乳酸桿菌 *Lactobacillus* がリノール酸をオレイン酸に代謝する過程で産生されるメタボライトのひとつであり、腸管上皮細胞のバリア機能制御を介して実験的腸炎の発症を抑制することが報告されている。我々はこれまでにヒトの唾液中にも HYA が存在していることを確認しており、本研究において HYA が歯周炎の発症・進行に与え

る影響に関して、歯肉上皮バリア機能に注目して *in vitro* と *in vivo* で解析を行った。

【材料および方法】

ヒト歯肉上皮細胞株 (Epi4) における脂肪酸受容体発現の有無を検証した。Epi4 を主要な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. g*) で刺激することで上皮バリアが破壊される *in vitro* モデルを確立した後、HYA が上皮バリア機能に与える効果を FITC-dextran 透過性試験法と透過型電子顕微鏡にて観察した。その詳細なメカニズムを検討する目的で、HYA による抗菌効果、プロテアーゼ阻害効果、バリア関連遺伝子およびタンパクへの影響をそれぞれ解析した。また *in vivo* において、歯周炎の病態形成における HYA の効果を検討する目的で、10 週齢雄 C57BL/6 マウスに HYA を 14 日間経口投与し、7 日目に上顎第二臼歯を絹糸で結紮して実験的歯周炎を惹起した。14 日目に各種サンプリングを行い、歯周組織におけるバリア機能関連遺伝子・タンパク発現の変動を解析した。歯周炎の重症度は、歯周組織における炎症性サイトカイン発現と歯槽骨吸収量によって比較検討した。

【結 果】

Epi4 において HYA を認識する脂肪酸受容体 GPR40 が遺伝子レベルおよびタンパクレベルで発現していることが確認された。*in vitro* の透過性試験において、*P. g* 刺激で誘導される上皮バリア機能低下に対して、HYA が抑制的に機能することが明らかとなった。GPR40 を

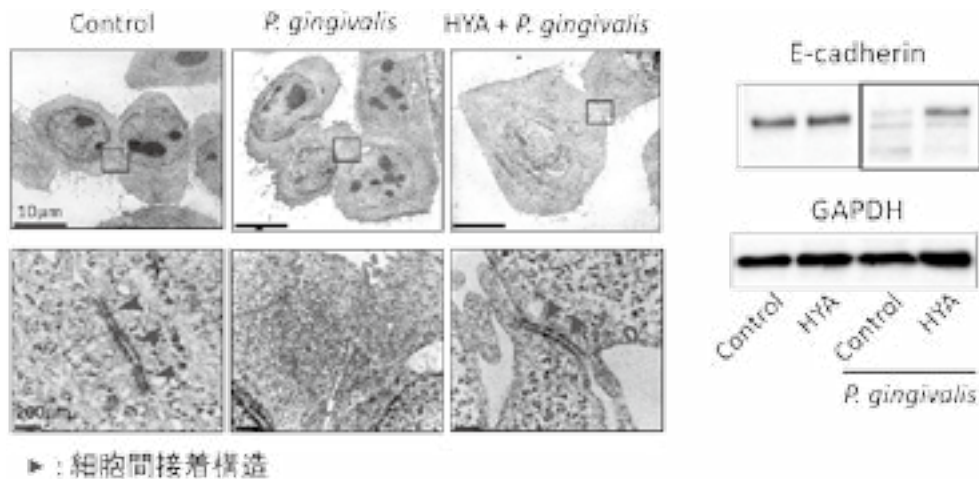


図1 HYA による細胞間接着タンパク質への影響

介した細胞内シグナリングが上皮バリア関連タンパク E-cadherin の分解を抑制することが確認された (図 1)。一方で, HYA は抗菌作用とプロテアーゼ阻害作用は有さないことが明らかとなった。 *in vivo* の実験的歯周炎マウスにおいて, HYA 投与が歯周組織における炎症性サイトカイン産生および歯槽骨吸収を抑制することが確認された。また, HYA 投与群は非投与群と比較して, 歯周組織における E-cadherin の発現量が有意に高いことが観察された。

【考察と結論】

歯肉上皮細胞において, HYA が細胞内シグナリングを介して上皮バリア関連タンパクの分解を抑制することで, 上皮バリア機能が維持・強化される結果, 歯周炎の発症や進行に対して抑制的に機能することが示唆された (図 2)。これまでの歯周病予防・治療薬の多くは主に歯周病原細菌をターゲットとしてきたが, 本研究において生体防御の最前線に位置する歯肉上皮バリア機能, すなわち宿主機能を強化するというアプローチでメタボライトを応用した, 新たな歯周炎予防薬・治療薬の開発に貢献することが期待される。

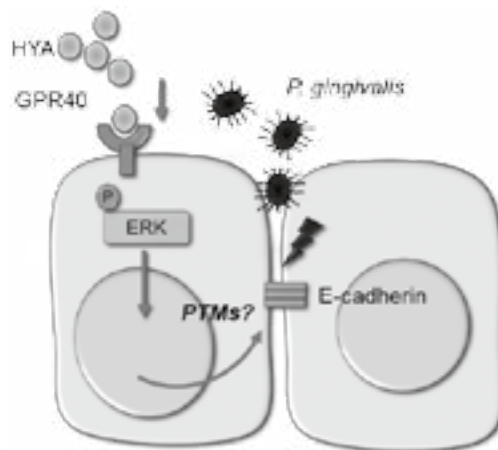


図 2 HYA が歯肉上皮バリア機能を強化するメカニズム (仮説)

【参考文献】

Yamada M, Takahashi N, Matsuda Y, Sato K, Yokoji M, Sulijaya B, Maekawa T, Ushiki T, Mikami Y, Hayatsu M, Mizutani Y, Kishino S, Ogawa J, Arita M, Tabeta K, Maeda T, Yamazaki K: A bacterial metabolite ameliorates periodontal pathogen-induced gingival epithelial barrier disruption via GPR40 signaling. *Sci Rep* 8: 9008, 2018.

(図は全て参考文献より改変して引用)