

## 論文内容の要旨

論文提出者	(氏名) 伊崎佳那子
論文題目	Lipopolysaccharide induces bacterial autophagy in epithelial keratinocytes of the gingival sulcus
<p>(論文内容の要旨)</p> <p><b>背景</b>          歯肉溝におけるケラチノサイト (KC) は、細菌及び細菌からの lipopolysaccharide (LPS) 刺激に対して、オートファジー (自食作用) を誘導して細胞ストレスに適応する可能性が報告されている。本研究では擦過歯肉溝上皮細胞および培養ケラチノサイトを用いて <i>P. gingivalis</i> (P.g) 由来 LPS 刺激による、オートファジー誘導を介した細菌と上皮細胞の相互作用について検索した。</p> <p><b>方法</b>          1) 健常者ボランティア 30 名の歯肉溝歯肉および遊離歯肉をサイトブラシで擦過して上皮細胞を採取しパパニコロウ染色及びギムザ染色を行った。LPS 刺激に対する上皮細胞での LBP, ICAM-1, TLR4 および TLR2 発現の変化を免疫細胞染色法およびウェスタンブロッティング法にて検索した。また、オートファジー誘導については LC3 および Beclin-1 抗体を用いて検討した。(福岡歯科大学倫理審査委員会 No. 298)          2) 培養細胞 HaCaT (ヒト・ケラチノサイト) 細胞に P.g 由来 LPS で 24 時間刺激を行い、オートファジー関連因子、ROS 発現、AMPK 発現および TLR 発現について免疫細胞染色法およびウェスタンブロッティング法にて検索した。また、3-MA (オートファジー誘導阻害剤) および PMB (LPS 阻害剤), NAC (ROS 阻害剤) による阻害実験を組み合わせ、オートファジー誘導との関連性を検索した。さらに、LPS 刺激による細菌性オートファジー (xenophagy) の誘導を <i>E. coli</i>-BioParticles を用いて検討した。</p> <p><b>結果</b>          1) 擦過歯肉溝上皮細胞は、オートファジーが誘導され、LPS 誘導因子である LBP 及び TLR の発現亢進が認められた。また、オートファゴゾーム内には細菌が共在する所見を認めた。一方、遊離歯肉由来の擦過ケラチノサイトにおいては、細菌の関与が少なく、オートファジーの誘導も抑制傾向を示した。          2) LPS 刺激 HaCaT 細胞におけるオートファジーの誘導は、細胞内 ROS 沈着の増加を介した AMPK 経路の活性化による可能性が考えられた。オートファジー誘導と TLR 4 シグナルの活性化も相関する傾向を示した。また、LPS 刺激によりオートファジーを誘導した HaCaT 細胞においては、<i>E. coli</i>-Bioparticles を細胞内に積極的に取り込むことが明らかとなった。この取り込みは、3-MA および PMB により抑制され、細菌性オートファジーが誘導された可能性を示唆した。</p> <p><b>結論</b>          これらの結果より、LPS 刺激 (P. g 由来) により誘導されたオートファジーは歯肉溝上皮細胞と歯周病原菌に対する防御作用の一部に関与することが示された。</p>	