

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	佐久間 美雪
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 口腔粘膜上皮細胞における CEACAM1 による <i>Candida</i> 細胞壁構成成分 β -glucan の認識機構			
論文審査担当者			
主査	教授	宮内 睦美	印
審査委員	教授	柴 秀樹	
審査委員	教授	二川 浩樹	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>口腔カンジダ症は <i>Candida albicans</i> を原因菌とする日和見感染症である。口腔内常在菌である <i>Candida albicans</i> は口腔粘膜に付着，定着し，粘膜を障害する。一方，口腔粘膜上皮細胞は <i>Candida albicans</i> を認識し，免疫防御応答を行っている。申請者らは以前，口腔粘膜上皮細胞が <i>Candida albicans</i> 感染の際に <i>Candida albicans</i> 細胞壁構成成分 β-glucan を認識することでストレス応答蛋白 HO-1 を発現誘導し，酸化ストレスに対する宿主防御を行っていることを報告している。このことは口腔粘膜上皮細胞には β-glucan を認識する細胞表面受容体が存在し，HO-1 を誘導する機構が存在することを示唆している。しかしながら，口腔粘膜上皮細胞における β-glucan を認識する受容体に関しては報告されていない。</p> <p>一方，CEA ファミリーのサブグループである CEACAM1 は，細胞間接着分子として知られている。血管新生や腫瘍増殖などのさまざまな生理活性に関与することが報告されている。近年では，腸粘膜上皮細胞における CEACAM1 が <i>Candida albicans</i> 生菌と結合すると報告されている。また，CEACAM1 は口腔粘膜上皮細胞にも発現していること，歯周病を有する組織では口腔粘膜上皮，健常者の正常上皮では接合上皮に CEACAM1 が検出されるとの報告がある。これらのことから，CEACAM1 は口腔粘膜における <i>Candida albicans</i> 感染に対して何らかの役割を担っている可能性が考えられる。しかしながら，口腔粘膜上皮における宿主免疫機能の役割に関しては明らかにされていない。</p> <p>そこで本研究では，口腔粘膜上皮細胞における <i>Candida albicans</i> β-glucan で誘導される免疫応答に対する CEACAM1 の影響と β-glucan の認識について明らかにするために，不死化口腔粘膜上皮細胞（RT7）をもちいて <i>Candida albicans</i> や β-glucan を添加することで，RT7 における CEACAM1 の発現や，CEACAM1 と β-glucan の親和性について検討した。また，β-glucan 誘導性のシグナル伝達経路や，ストレス応答遺伝子，炎症性サイトカインの発現誘導への CEACAM1 の影響に関する検討を行った。</p> <p>結果を以下に示す。</p> <ol style="list-style-type: none"> RT7 に <i>Candida albicans</i> 生菌，加熱死菌，β-glucan を添加することで，CEACAM1 の発現が増加した。初代培養した正常口腔粘膜上皮細胞に <i>Candida albicans</i> および酵母由来 β-glucan を添加することで，CEACAM1 の発現が増加した。 Binding assay によって CEACAM1 リコンビナント蛋白と β-glucan の付着を示した。免疫沈降法によって RT7 における CEACAM1 と β-glucan の結合親和性が認められた。蛍光免疫染色法によって CEACAM1 と β-glucan の共局在が観察された。 CEACAM1 のノックダウンにより β-glucan 誘導性の ROS の亢進が抑制され，Nrf2 の核内移行が抑制された。 			

4. CEACAM1 特異的 siRNA, 中和抗体により β -glucan 誘導性の HO-1 の発現が抑制された。一方, HO-1 のノックダウンにより β -glucan 誘導性の IL-8 の発現はさらに増加した。

以上の結果より下記のことが示唆された。1) 口腔粘膜上皮細胞において CEACAM1 は *Candida albicans* 生菌, 加熱死菌, β -glucan によって増加する。2) CEACAM1 と β -glucan に結合親和性を認める。3) CEACAM1 は β -glucan 誘導性の ROS/Nrf2 酸化ストレスシグナルによって誘導される HO-1 の発現に関与する。4) CEACAM1 は HO-1 を介して, β -glucan 誘導性の IL-8 の過剰発現を抑制的に関与する。

本研究によって *Candida albicans* 感染の際に CEACAM1 が β -glucan を認識し結合することで, 細胞内酸化ストレスに対する防御機構を稼働し, 口腔粘膜における免疫応答に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

本論文は, 口腔粘膜上皮細胞の細胞間接着分子 CEACAM1 が, *Candida albicans* 感染の際に細胞壁構成成分 β -glucan によって誘導される免疫応答に関与していることを実証したものであり, 口腔カンジダ症との関連について論じている。論文に示されたデータは結論を導くために十分であると考えられ, また β -glucan 依存性に生じるストレス応答機構や, 慢性的に経過した炎症に対して抑制的に働く CEACAM1 の役割に関する検討は, 口腔カンジダ症の病態把握など臨床応用への可能性が期待できる。これらの研究成果は, 口腔外科学をはじめ歯科医学の発展に寄与するものが大きいと評価される。よって審査委員会委員全員は, 本論文が佐久間美雪に博士(歯学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。