

演題4. *Abiotrophia defectiva* による血管内皮細胞からのサイトカイン産生と白血球接着分子発現誘導

○田近志保子, 佐々木 実, 根本 優子,  
田中 千春, 木村 重信

岩手医科大学歯学部口腔微生物学講座

目的: *Abiotrophia defectiva* は口腔レンサ球菌の一菌種であるが, 同時に感染性心内膜炎の起炎菌の一つにも挙げられている。我々はこれまでに本菌が血管内皮細胞への強い付着能を有することを報告してきた。本研究では, 付着後の *A. defectiva* による血管内皮細胞への作用, 特にサイトカイン産生および白血球接着分子発現誘導を経時的に検討する。

材料・方法: 株化血管内皮細胞 (HUVEC) に *A. defectiva* ATCC 49176 ( $1 \times 10^6$  CFU) を添加, 培養し, サイトカイン (IL-8, TNF $\alpha$ ) および白血球接着分子 (E-selectin, ICAM-1, VCAM-1) の mRNA 発現について RT-PCR 法を用い, 経時的に検討した。また, 培養上清中のサイトカインおよび遊離白血球接着分子は ELISA で測定した。さらに, HUVEC 上の白血球接着分子の発現は蛍光免疫染色により検討した。

結果と考察: *A. defectiva* 刺激後1時間で TNF $\alpha$  産生誘導が, 2時間で IL-8 の mRNA 発現誘導が認められた。白血球接着分子発現はいずれもサイトカイン mRNA 発現誘導に遅れて観察され, 刺激後6~8時間で顕著な発現誘導が認められた。また, 刺激後6時間で HUVEC 上の E-selectin および ICAM-1 分子の発現が観察された。以上の成績より, *A. defectiva* は血管内皮細胞に付着後, IL-8, TNF $\alpha$  等のサイトカイン産生と E-selectin, ICAM-1 および VCAM-1 といった白血球接着分子の発現を誘導し, 血管内皮における炎症反応に関与していることが明らかとなった。

結論: *A. defectiva* は血管内皮細胞に付着し, 炎症性サイトカイン産生を誘導した後, 白血球接着分子の発現を誘導し, 血管内皮での炎症反応を進展させる可能性が示唆された。

演題5. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Y4 株菌体成分の IL-1 $\beta$  誘導能に関する研究

○岩田 武久, 國松 和司

岩手医科大学歯学部歯科保存学第二講座

目的: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* の菌体表層には莢膜多糖が存在する。*A. actinomycetemcomitans* Y4 株の莢膜多糖 (Y4 CP) が生体に及ぼす多彩な生理的反応について様々な報告があるが, 免疫系の細胞について Y4 CP の影響を詳細に検討した報告は見られない。そこで, 本研究ではヒト単球様細胞である THP-1 細胞を用い, Y4 CP 応答におけるサイトカイン mRNA 発現に対する影響と, その機序について検討した。

材料・方法: 実験には, 活性型ビタミン D $_3$  を添加し, 分化を促進させた THP-1 細胞を用いた。細胞を各条件にて Y4 CP 処理し, 回収した細胞から cDNA を合成した。合成した cDNA は, RT-PCR あるいは real-time PCR を用い, Y4 CP 処理によるサイトカイン mRNA 誘導の解析に使用した。up-regulate された mRNA 発現に関与する細胞内シグナル経路を検索するため, 代表的な細胞内シグナル経路である MAP キナーゼの抑制剤 (PD98059, SB203580, JNK Inhibitor II) を用い, サイトカイン mRNA 発現への影響を確認した。

結果: ① Y4 CP 処理により IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  の mRNA 発現が up-regulate されたが, その割合は IL-1 $\beta$  mRNA の方が高かった。② Y4 CP 処理において, 濃度依存性ならびに時間依存性に IL-1 $\beta$  mRNA 発現が増加した。③ Y4 CP が誘導する IL-1 $\beta$  mRNA 発現において, JNK Inhibitor II は濃度依存的に IL-1 $\beta$  mRNA の発現を抑制した。

考察・結論: 分化させた THP-1 細胞は Y4 CP に応答し, IL-1 $\beta$  mRNA 発現が増加し, その細胞内シグナルには JNK 経路の活性化が重要な役割を担っている可能性が示唆された。