



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Activation of NLRP3 inflammasome in dendritic cells and macrophages by Mycoplasma salivarium [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	杉山, 正博
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11729号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59249
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masahiro_Sugiyama_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 杉山 正博

学 位 論 文 題 名

Activation of NLRP3 inflammasome in dendritic cells and macrophages
by *Mycoplasma salivarium*
(*Mycoplasma salivarium*による樹状細胞ならびにマクロファージにおける
NLRP3 インフラマソーム活性化)

IL-1 β はインフラマソームと呼ばれる細胞内センサーで制御されている炎症性サイトカインであり、また、歯周炎の病態形成において重要な役割を果たしている。*Mycoplasma salivarium*は口腔から分離される代表的なマイコプラズマであり、歯周炎や顎関節症との関連性が疑われている。そこで、本研究では *M. salivarium* の歯周炎における病因的役割を明らかにするために、樹状細胞ならびにマクロファージに IL-1 β の産生を誘導するかどうかを検証した。

M. salivarium ATCC 23064 (MS) ならびに *M. pneumoniae* ATCC 15492 (MP)は Hayflick の培地で培養した。標的細胞として A/J マウス由来樹状細胞株である XS-106 細胞、また、C57BL/6 マウスならびに C57BL/6 マウスから caspase-1、ASC あるいは NLRP3 を欠損させたマウス (caspase-1^{-/-}、ASC^{-/-}、NLRP3^{-/-}マウス) より採取した骨髓細胞から分化誘導したマクロファージ (BMMs) を用いた。IL-1 β の産生は ELISA 法ならびに Western blot 法で評価した。

MS ならびに MP の生菌および死菌 (100°C で 5 分処理) で XS-106 細胞を刺激したところ、両菌種の生菌、死菌共に IL-1 β 産生を誘導し、さらに XS106 細胞に対してピロプトーシスと呼ばれるネクローシス様の細胞死を誘導した。また、これらの活性は caspase-1 に特異的

な siRNA の導入により有意に抑制されたことから、MS ならびに MP の IL-1 β 産生誘導活性には caspase-1 の関与が示唆された。caspase-1 の活性化に関わる代表的なインフラマソームである NLRP3 に特異的な siRNA の導入により抑制傾向を認められたが、明らかな有意はみられなかった。そこで、両マイコプラズマの IL-1 β 産生誘導活性に及ぼす NLRP3 インフラマソームの活性化因子である ROS (reactive oxygen species) の関与を検証した。これらの IL-1 β 産生誘導活性は ROS 阻害剤である N-アセチルシステインにより有意に阻害された。また、XS-106 細胞を両マイコプラズマで刺激することにより、実際に ROS の産生が確認された。これらの結果は、両マイコプラズマが NLRP3 インフラマソームを活性化して IL-1 β の産生を誘導していることを示唆している。更に、NLRP3 インフラマソームの関与を検証するために、caspase-1 $^{-/-}$ 、ASC $^{-/-}$ ならびに NLRP3 $^{-/-}$ マウス由来の BMMs を標的細胞として用いた。MS は caspase-1 $^{-/-}$ ならびに ASC $^{-/-}$ 由来 BMMs に対してほぼ完全に IL-1 β の産生を誘導しなかった。しかしながら、NLRP3 $^{-/-}$ 由来 BMMs に対する活性は有意に抑制されていたが、その程度は約 60% で完全な抑制ではなかった。このことは、MS は NLRP3 インフラマソームを含むいくつかのインフラマソームの活性化を通して IL-1 β の産生を誘導する活性を有していることを示唆している。

以上の結果から、MS は歯周組織に浸潤している樹状細胞やマクロファージに IL-1 β の産生を誘導することにより、歯周炎の発症ならびに増悪において重要な病因的な役割を果たしていることが推測される。