

## 口腔粘膜細胞の免疫応答

——特に好中球酵素 proteinase 3 による protease-activated receptor-2 を介するヒト口腔上皮細胞活性化——

上原 亜希子

東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座 口腔分子制御学分野



この度第15回歯科基礎医学会賞を拝受致しました(2003年9月,対象論文は5)。第1回東北大学総長賞受賞(2003年3月)の報告を兼ねて,筆者がこれまで行った研究の内容を紹介させていただきます。

口腔上皮細胞は単なるバリアーとして機能するばかりでなく,種々の

炎症性サイトカインや増殖因子を産生して生体防御に積極的に関与していることを示唆する知見が集積している。筆者らも次のような知見を得ている。口腔上皮細胞はCD14分子は欠くものの,他組織の上皮細胞と同様にTLR系分子群を発現しているにも関わらず,遊離型CD14(sCD14)の存在下でも多くの菌体成分に不応答性である<sup>1)</sup>が,歯周病原性細菌の菌体成分の一部には応答する<sup>2)</sup>。interferon(IFN)- $\gamma$ で同細胞をプライムするとそれまで応答しなかった各種菌体成分にも応答性を示す<sup>3)</sup>。さらに,同細胞をIFN- $\gamma$ 処理後内毒素性リポ多糖(LPS)と好中球セリンプロテアーゼの一つproteinase 3(PR3)で共刺激すると活性型interleukin(IL)-18の産生が誘導される<sup>4)</sup>。当時,LPSはTLR4/MD2複合体を介して細胞を活性化することが知られていたが,PR3による細胞活性化メカニズムについては不明であったので,その解明を目指した。

PR3の受容体としてprotease-activated receptor(PAR)に着目した。PARファミリーは7回膜貫通型のGタンパク質共役受容体の一つで,プロテアーゼによりtetheredリガンドの外側が切断されるとリガンドが受容体本体に結合して細胞を活性化する。PR3単独刺激に対しても同細胞は明瞭な炎症性サイトカイン(IL-8とMCP-1)産生と接着分子(ICAM-1)発現の亢進を示した。口腔上皮細胞はPAR-1,-2および-3 mRNAを発現しており,PR3刺激によって同細胞膜上のPAR-2発現が明瞭に亢進した。PR3は既知のPAR-2リガンド(trypsin)と同一部位でPAR-2を切断することが明らかとなった。RNA干渉法(RNAi法)でPAR-2遺伝子を抑制するとPR3による同細胞活性化が認められなくなること,細胞内カルシウム動態の解析およびphospholipase Cインヒビターによる抑制実験の結果からPR3による同細胞活性化はPAR-2を介するという結論を得た<sup>5)</sup>。さらに,口腔上皮細胞が他の好中球セリンプロテアーゼcathepsin Gおよびelastaseにより

活性化されないのは上皮細胞が特異的に産生するこれら酵素の阻害物質であるSLPIが原因であり,歯肉線維芽細胞では3種の酵素がPAR-2を介して細胞を活性化することを証明した<sup>6)</sup>。

### 主な論文

- 1) Uehara, A., Sugawara, S., Tamai, R. and Takada, H.: Contrasting responses of human gingival and colonic epithelial cells to lipopolysaccharides, lipoteichoic acids and peptidoglycans in the presence of soluble CD14. *Med. Microbiol. Immunol.* **189**: 185-182, 2001.
- 2) Sugiyama, A., Uehara, A., Iki, K., Matushita, K., Nakamura, R., Ogawa, T., Sugawara, S. and Takada, H.: Activation of human gingival epithelial cells by cell-surface components of black-pigmented bacteria: augmentation of production of interleukin-8, granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and expression of intercellular adhesion molecule. *J. Med. Microbiol.* **51**: 27-33, 2002.
- 3) Uehara, A., Sugawara, S. and Takada, H.: Interferon- $\gamma$  primes human oral epithelial cells to secrete cytokines in response to lipopolysaccharides, lipoteichoic acids and peptidoglycans. *J. Med. Microbiol.* **51**: 626-634, 2002.
- 4) Sugawara, S., Uehara, A., Nouchi, T., Yamaguchi, T., Ueda, H., Sugiyama, A., Hanzawa, H., Kumagai, K., Okamura, H. and Takada, H.: Neutrophil proteinase 3-mediated induction of bioactive IL-18 secretion by human oral epithelial cells. *J. Immunol.* **167**: 6568-6575, 2001.
- 5) Uehara, A., Sugawara, S., Muramoto, K. and Takada, H.: Activation of human oral epithelial cells by neutrophil proteinase 3 through protease-activated receptor-2. *J. Immunol.* **169**: 4594-4603, 2002.
- 6) Sugawara, S., Uehara, A., Tamai, R. and Takada, H.: Innate immune responses in oral mucosa. *J. Endotoxin Res.* **8**: 465-468, 2002.
- 7) Uehara, A., Sugawara, S., Watanabe, K., Echigo, S., Sato, M., Yamaguchi, T. and Takada, H.: Constitutive expression of a bacterial pattern recognition receptor, CD14, in human salivary glands. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* **10**: 286-292, 2003.
- 8) Uehara, A., Muramoto, K., Takada, H. and Sugawara, S.: Neutrophil serine proteinases activate human nonepithelial cells to produce inflammatory cytokines through protease-activated receptor-2. *J. Immunol.* **170**: 5690-5696, 2003.
- 9) Ozawa, A., Tada, H., Tamai, R., Uehara, A., Yamaguchi, T., Shirauchi, H., Takada, H. and Sugawara, S.: Expression of IL-2 Receptor  $\beta$  and  $\gamma$  chains by human gingival fibroblasts: induction of monocyte chemoattractant protein-1 and intercellular adhesion molecule-1 expression in response to IL-2 resulting in up-regulation of neutrophil adhesion. *J. Leukocyte. Biol.* **74**: 352-359, 2003.

### 略歴

1996年3月 鹿児島大学歯学部卒

2003年3月 東北大学大学院歯学研究科(口腔微生物学分野)修了〔博士(歯学)〕

2003年4月より日本学術振興会特別研究員(PD)(口腔分子制御学分野)

(現在に至る)