

病原微生物が引き起こす口腔感染症における 免疫制御機構の解明

[1] 組織

代表者：田中 芳彦

(福岡歯科大学口腔歯学部)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：永尾 潤一 (福岡歯科大学口腔歯学部)

岸川 咲吏 (福岡歯科大学口腔歯学部)

豊永 憲司 (福岡歯科大学口腔歯学部)

研究費：物件費 13万円

[2] 研究経過

口腔感染症は、歯周病原細菌やカンジダ菌などの口腔内常在菌が原因で発症する難治性の感染症である。その病態には免疫応答が関与しているものの、制御機構については不明な点が多い。歯周病や口腔カンジダ症は再発を繰り返す、既存の医療には限界があるために新しい予防法と治療法の開発が待たれているが、口腔微生物に特異的な免疫応答を誘導する治療法の開発は進んでいない。申請者は口腔感染症を対象として病態を制御する免疫細胞の解析を行っており、その責任T細胞の特定を試みてきた。

本研究では、T細胞受容体レパートリー解析システムを構築している加齢研 小笠原康悦博士の協力を得て、申請者が樹立した口腔感染症モデル動物から分離したサンプルを対象にその責任T細胞のT細胞受容体レパートリーを解析するなどして、歯周病や口腔カンジダ症といった口腔感染症の免疫制御機構を解明することを目的としている。

口腔内細菌は唾液とともに常に腸に流れ込んでおり、歯周病患者では一日に 10^8 – 10^{10} の歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を飲み込んでいる。飲み込まれた *P. gingivalis* は腸内細菌叢に定着しないが、パイエル板などの腸管関連リンパ組織では病原性細菌の侵入を監視している。我々は、口から流れ込んだ *P. gingivalis* が腸で取り込まれ、腸内細菌叢の影響を受けて活性化された Th17 細胞が口腔へ移動して歯周病の発症と重症化を引き起

こすことをマウスの実験で解明した (図1) 1)。

以下、研究活動状況の概要を記す。本研究は、福岡歯科大学口腔歯学部ならびに東北大学加齢医学研究所で実施した。口腔感染症モデル動物の構築、免疫応答の解析、免疫組織の単離、RNA サンプルの作成、T細胞受容体レパートリー解析等、情報交換をしながら、共同研究を進めた。

研究の遂行にあたって、新型コロナウイルス感染防止対策として東北大学–福岡歯科大学の研究打合せは直接訪問面談を回避して、学会参加時の交流を活用するなどした他、基本的に電子メール等によって実験計画の作成、実験結果の解析、といった共同研究の進捗状況と研究方針の確認を行なった。

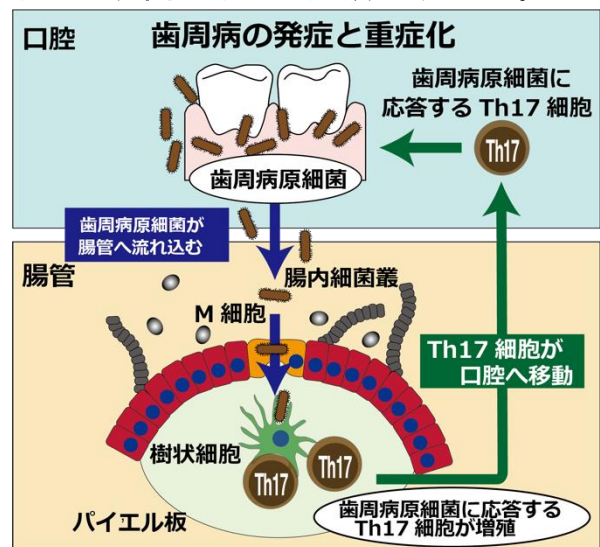


図1 腸管における免疫応答を介した歯周病の発症と重症化の仕組み (概念図)

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

マウスを用いた歯周病の解析では、歯の周囲に糸を装着する歯周炎の解析 (リガチャー誘発性歯周炎モデル) が多い。我々は物理的な手法ではなく歯周病原細菌 *P. gingivalis* を感染させる歯周病感染モデルマウスの構築に成功し、生理的な条件でさまざまな歯周病の病態の評価が可能になった (図2) 1)。

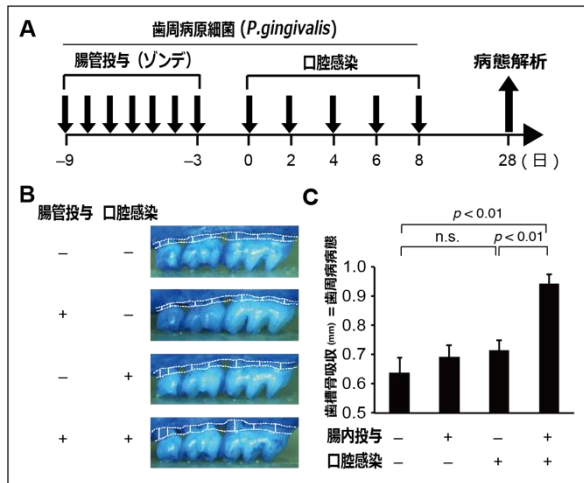


図2 歯周病感染モデルマウスの実験系

この実験系では *P. gingivalis* の口腔感染のみでは歯周病の発症（歯槽骨の吸収で評価）がマイルドな条件とした。加えて、ゾンデで直接的に歯周病の患者が1日に飲み込んでいる量の *P. gingivalis* を腸管投与することで、口腔感染と区別した。*P. gingivalis* を腸内投与した後に *P. gingivalis* の口腔感染をすると、歯周病が増悪化することを見出した（図2）¹⁾。

IL-17A-GFP レポーターマウスを用いて IL-17A 産生細胞を可視化したところ、歯周組織に GFP 陽性 Th17 細胞が多数認められた。歯周病原細菌 *P. gingivalis* が腸管に移動すると Th17 細胞の誘導が亢進して *P. gingivalis* の口腔感染による歯周病が増悪化することがわかった。

骨髄細胞から分化誘導した樹状細胞に *P. gingivalis* 成分を抗原提示させて検証したところ、*P. gingivalis* の腸管投与により末梢リンパ節で *P. gingivalis* 反応性 Th17 細胞が増加していることが確認された。蛍光標識した *P. gingivalis* を腸管に投与したところ、M 細胞を介して小腸のパイエル板の樹状細胞に取込まれていた。

腸内細菌がない無菌マウスに対して歯周病感染モデルマウスで解析すると、*P. gingivalis* を腸管に投与しても *P. gingivalis* 反応性 Th17 細胞は増加せず、歯周病の発症が認められなかった。SPF マウスの糞便移植によって *P. gingivalis* 反応性 Th17 細胞が増加するとともに歯周病を発症することから、腸内細菌叢が歯周病の発症と重症化に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

光照射により色が変わる KikGR マウスに *P. gingivalis* を腸内投与し、腸管にて光照射により緑蛍光から変化させた赤蛍光を指標に *P. gingivalis* 反応性 Th17 細胞の生体内での移動を追跡すると、口腔感染によって腸から口腔へ移動していることが確認された。

これらの解析により腸での免疫応答が歯周病の発

症と重症化を引き起こす仕組みの一部が解明された。

（3-2）波及効果と発展性など

歯周病の発症と重症化における腸内細菌の役割と Th17 細胞の免疫応答調節機構には不明な点が多い。また、口腔カンジダ症などの口腔感染症の病態は、Th17 細胞を主体とした免疫応答によって制御されていることが明らかになっている。しかし、歯周病や口腔カンジダ症といった口腔感染症の責任 T 細胞の T 細胞受容体レパートリーについての解析は進んでいない。本共同研究の継続による責任 T 細胞の免疫応答の解析を介して、これらの口腔感染症の免疫制御機構が解明されると考えられる。また、その責任 T 細胞の T 細胞受容体レパートリーの解析情報に基づき、口腔感染症に対する新しい治療法の開発が期待される。

[4] 成果資料

[論文発表]

(1) Nagao, J., Kishikawa, S., Tanaka, H., Toyonaga, K., Narita, Y., Negoro-Yasumatsu, K., Tasaki, S., Arita-Morioka, K., Nakayama, J., Tanaka, Y. Pathobiont-responsive Th17 cells in gut-mouth axis provoke inflammatory oral disease and are modulated by intestinal microbiome. *Cell Rep.* 40: 111314, 2022. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111314>

[学会発表]

(2) Nagao, J., Kishikawa, S., Toyonaga, K., Kaji, E., Negoro-Yasumatsu, K., Tasaki, S., Tanaka Y. Development of periodontitis mediated by T-cell immune response against periodontal bacteria. The 51th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Kumamoto, Dec. 7th, 2022.

(3) Toyonaga, K., Kaji, E., Nagao, J., Tasaki, S., Kishikawa, S., Negoro-Yasumatsu, K., Tanaka Y. Analysis of immune responses in a murine oral candidiasis model. The 51th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology. Kumamoto, Dec. 7th, 2022.

(4) 永尾潤一、岸川咲吏、豊永憲司、加地英美、根来(安松) 香奈江、田崎園子、田中芳彦. 歯周病の病態形成を制御する宿主免疫システムの解明. 第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 徳島, 9 月 18 日, 2022.

(5) 豊永憲司、永尾潤一、水上昂、田崎園子、岸川咲吏、加地英美、根来香奈江、田中芳彦. *Candida albicans* 口腔感染によって誘導される免疫応答の解析. 第 64 回歯科基礎医学会学術大会, 徳島, 9 月 18 日, 2022.