

課題番号 8

健康な高齢期を迎えることを目指した 口腔感染症の病態の解明と治療法の開発

[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)
有田 健一 (福岡歯科大学口腔歯学部)
成田 由香 (福岡歯科大学口腔歯学部)

研究費：物件費 15万円

[2] 研究経過

歯周病は口腔内常在細菌による感染症であり、歯を失う最も大きな原因であることから健康な高齢期の大きな妨げになっている。また、口腔真菌感染症は、カンジダ菌などの口腔内常在真菌が原因で発症する難治性の口腔感染症で、高齢化が進む中で、義歯の使用と相まって患者数が増加傾向にある。このような歯周病や口腔真菌感染症といった口腔感染症は、口腔内常在微生物によって引き起こされる疾患であり、その病態がリンパ球を主体とした免疫応答によって制御されているが明らかになってきた。

歯周病原細菌をはじめとする口腔細菌やそのエンドトキシンは、歯肉組織の外傷、デンタルフロス、歯科的処置や食事などの機械的作用によって直接的に血管内に移行することで全身に影響を及ぼす(図1)。また、局所としての口腔での感染は、炎症反応と免疫応答によって産生されたサイトカインが血管内に放出されることで間接的に全身へ影響を及ぼす(図1)。このように従来の歯学の概念を拡大して、歯およびその周囲組織を含めた口腔領域全体を全身の臓器の一つとしてとらえる学問体系を口腔医学と呼ぶ。口腔と全身の関連性がある疾患が明らかになってきているものの、不明な点が多く残されている。

我々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いる。本研究では、独創的なT細胞受容体レパートリー解析システムを開発した小笠原康悦博士の

ご協力を得て、申請者が提供する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し、口腔感染症の病態を解明するとともに治療法を開発することを目的としている。

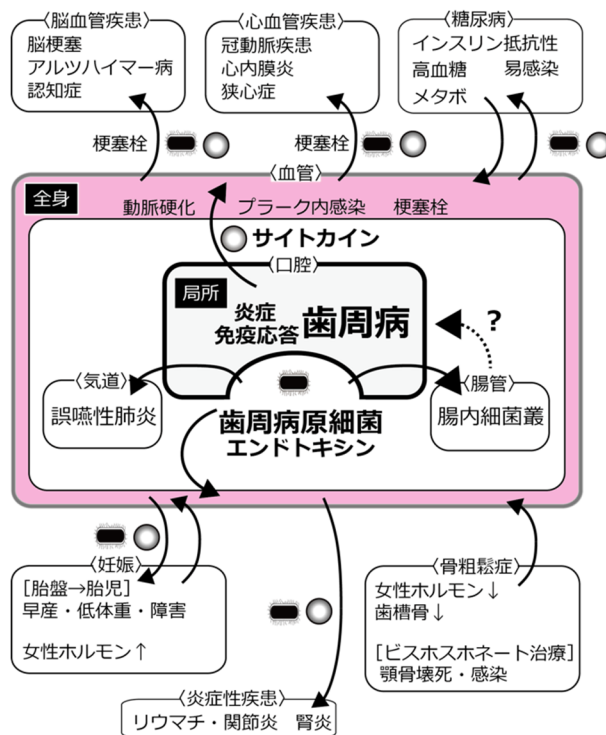


図1 口腔と全身疾患の関係

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ー福岡歯科大学の研究打合せは直接訪問面談を回避して、基本的に電子メール等によって実験計画の作成、サンプル送付、実験結果の解析、といった段階で実験ごとに共同研究の進捗状況と研究方針の確認を行なった。

[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。

福岡歯科大学で構築済みの歯周病の口腔感染症モデル動物を用いて解析を行った。感染動物から免疫リンパ組織を採取し、ヘルパーT細胞を精製した後、歯周病原細菌由来の抗原を骨髄から誘導した樹状細胞に抗原提示させて培養した。増殖応答したヘルパーT細胞に対してサイトカインの産生を指標としてセルソーティングした後、RNAを精製してサンプルとした。得られたサンプルは、加齢研担当教員 小笠原研究室にて T細胞受容体レパートリー解析システムを用いて解析した。セルソーティング回収されたヘルパーT細胞は高純度であることがFACS解析により確認されたものの、RNA総量が解析システムに不十分であることが明らかになった。

次に、ヘルパーT細胞の精製と細胞培養の方法を改良することで、セルソーティングを行わずに高純度のサイトカイン産生ヘルパーT細胞を得ることができた。精製したRNAサンプルを用いて解析したところ、ほとんどのサンプルでデータを得られることがわかった。得られた分析データから歯周病の口腔感染症における責任T細胞が特徴的なT細胞受容体レパートリーをもつことが示唆された。これらの結果に基づき、十分なRNAを確保するための改良を加えることで、責任T細胞のT細胞受容体レパートリーを絞り込める見通しとなった。新たなサンプルを解析することで歯周病の病態に関連するT細胞受容体レパートリーを明らかにする計画である。また、カンジダ菌による口腔真菌感染症について口腔感染症モデル動物を構築しており、同様の戦略によりサンプルを作成し、解析を行う計画である。

(3-2) 波及効果と発展性など

以上のように、本共同研究の解析から、歯周病の病態を制御する責任T細胞では一定のT細胞受容体レパートリーが使われていることが明らかになりつつある。これらを特定することで、健康な高齢期を迎えることを目指した歯周病の病態の免疫制御機構の解明、歯周病の診断法の確立、歯周病の新規免疫療法の開発といった今後の重要な研究課題に波及すると考えられる。また、並行して進めている歯周病原細菌由来のT細胞責任抗原タンパク質の解析と相乗効果があるため、新しい歯周病疾患モデル動物の開発に発展することが期待される。

本共同研究は小笠原康悦博士と東北大学加齢医学研究所のご協力とご支援を受けて行われたものであり、ここに厚くお礼申し上げます。

[4] 成果資料

[学会発表]

(1) 田崎園子、有田(森岡)健一、永尾潤一、成田由香、根来(安松)香奈江、小島寛、田中芳彦. Th17細胞を介した免疫応答による口腔カンジダ症の病態制御機構の解明. 第62回歯科基礎医学会学術大会, Web開催, 9月11日-10月9日, 2020.

(2) 永尾潤一、成田由香、有田(森岡)健一、根来(安松)香奈江、田崎園子、田中芳彦. 歯周病原細菌の抗原性に着目した歯周病の病態形成機構の解明. 第62回歯科基礎医学会学術大会, Web開催, 9月11日-10月9日, 2020.

(3) 成田由香、永尾潤一、有田(森岡)健一、田崎園子、根来(安松)香奈江、田中芳彦. 歯周病の病態形成に関与するT細胞抗原探索. 第62回歯科基礎医学会学術大会, Web開催, 9月11日-10月9日, 2020.

(4) 池本梨央南、中村麻衣、永尾潤一、有田(森岡)健一、田中芳彦. 歯周病原細菌に対する増殖阻害活性を示すヒト口腔内常在細菌のスクリーニングと解析. 第62回歯科基礎医学会学術大会, Web開催, 9月11日-10月9日, 2020.

(5) 中村麻衣、梁 尚陽、永尾潤一、田中芳彦. プロバイオティクス投与による歯周病の抑制機構の解明. 第62回歯科基礎医学会学術大会, Web開催, 9月11日-10月9日, 2020.