

課題番号 27

口腔病原真菌に応答する責任 T 細胞の T 細胞受容体レパートア解析

[1] 組織

代表者：永尾 潤一

(福岡歯科大学機能生物化学講座感染生物学分野)

対応者：小笠原 康悦

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：田中 芳彦

(福岡歯科大学機能生物化学講座感染生物学分野)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

口腔真菌感染症は、高齢者や免疫不全患者などの易感染宿主で発症する日和見感染症である。その中で *Candida albicans* は高病原性の真菌であり、舌や口腔粘膜に白苔を形成することで口腔カンジダ症を引き起こす。超高齢化が急速に進む我が国において、口腔カンジダ症の患者数は増加しており、社会的関心は高い。近年、既存の抗真菌薬に対して耐性を獲得した耐性菌の出現が報告されており、全く新しい視点での予防・治療法の開発が望まれている。

C. albicans に対する宿主の生体防御には獲得免疫が関与することが知られている。その中で、IL-17A 産生を特徴とする T 細胞である Th17 細胞が重要な役割を果たし、Th17 欠損マウスでは口腔カンジダ症が重篤化することが報告されている (*J. Exp. Med.* 206: 299-311, 2009)。しかしながら、*C. albicans* に対する生体防御に関与する責任 Th17 細胞の T 細胞受容体は特定されておらず、口腔カンジダ症に対する免疫制御機構は不明な点が多く残されている。本共同研究では、加齢研・小笠原康悦博士の協力を得て、*C. albicans* に対する責任 Th17 細胞の T 細胞受容体を解明することで、口腔カンジダ症における免疫制御機構を解明することを目的として研究を行った (図1)。

以下、研究活動状況の概要を記す。本研究は、福岡歯科大学において、口腔カンジダ症のマウスモデルの構築、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のための準備等、東北大学の小笠原康悦博士と情報を交換しながら、共同研究を進めた。申請者は、これまでに小笠原康悦博

士と共同研究を行ってきた実績があり、これまでに加齢研への訪問、研究の打ち合わせ、サンプルの送付と解析と準備を進めてきた経緯がある。本共同研究もこれまでの連携を生かして研究を進めた。本共同研究の打ち合わせは、コロナ禍という状況もあり、研究電子メールや Zoom 会議により行った。

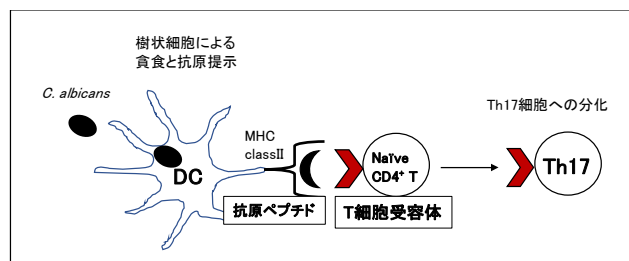


図1. *C. albicans* に対する責任 Th17 細胞の誘導

[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。申請者らは、既知の口腔カンジダ症マウスモデルで使用される免疫抑制剤や抗生物質の投与なしに、*C. albicans* を舌に塗布することで、口腔カンジダ症を発症できるマウスモデルを構築することができた。

次に、構築した口腔カンジダ症マウスモデルを活用し、口腔の所属リンパ節である頸部リンパ節および実行組織である舌に集積した Th17 細胞をターゲットとし、責任 T 細胞の T 細胞受容体の解析のための様々な条件検討を行った。頸部リンパ節および舌組織からの T 細胞の抽出、および抽出した T 細胞を骨髓由来の樹状細胞を抗原提示細胞とし、*in vitro* で *C. albicans* 抗原で再刺激することで *C. albicans* 抗原特異的な Th17 細胞を増殖させる条件などを検討した。また、T 細胞受容体レパートリー解析のための RNA の調製法についても検討した。このように、今後につながる有益な情報を得ることができた。

本年度は、口腔カンジダ症マウスモデルを用いて、*C. albicans* に対する責任 Th17 細胞の T 細胞受容体レパートリー解析のための基盤を構築することができた。今後は、検討した条件を用いて、*C. albicans* 抗原特異的な Th17 細胞から RNA を抽出し、小笠原康悦博士により、T 細胞受容体を構成する α 鎖と β 鎖の配列を

次世代シーケンサーにより解析して頂き、得られた配列情報を基に T 細胞受容体を特定する方針で研究を進展させる予定である。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、口腔カンジダ症の制御に関わる責任 Th17 細胞の T 細胞受容体が特定できれば、口腔カンジダ症に対する責任 Th17 細胞を誘導する新しい免疫療法の開発が可能になる。さらに、特定した T 細胞受容体を構成する α 鎖と β 鎖を発現するトランスジェニックマウスを作成することが可能になる。作成した T 細胞受容体トランスジェニックマウスは、口腔カンジダ症に非感受性となると考えられる。さらに、T 細胞受容体トランスジェニックマウス由来の CD4⁺T 細胞の T 細胞受容体に結合し、Th17 細胞へ分化誘導する *C. albicans* 由来の抗原ペプチドを同定することが可能になる (図 1)。同定された抗原ペプチドは、口腔カンジダ症を制御する特異的な免疫応答を誘導するカンジダワクチンとなる可能性があり、口腔カンジダ症の新しい予防法の開発に繋がる。このように本共同研究は、難治性で限られた治療法しかない口腔カンジダ症に対する新しい予防の開発に飛躍的な進展が期待できる。

[4] 成果資料

[学会発表]

(1) 永尾潤一, 岸川咲吏, 豊永憲司, 根来 (安松) 香奈江, 田崎園子, 田中芳彦. 歯周病発症を制御する免疫制御機構の解明. 第 63 回歯科基礎医学会学術大会, 2021 年 10 月 9 日~11 日.

(2) 岸川咲吏, 永尾潤一, 豊永憲司, 根来 (安松) 香奈江, 田中芳彦. 歯周病原細菌感染によるマウスの行動変化の免疫学的解明. 第 63 回歯科基礎医学会学術大会, 2021 年 10 月 9 日~11 日.

(3) 豊永憲司, 永尾潤一, 岸川咲吏, 田中芳彦. 口腔内細菌脂質成分の自然免疫活性化能の解析. 第 63 回歯科基礎医学会学術大会, 2021 年 10 月 9 日~11 日.

(4) 永尾潤一, 根来 (安松) 香奈江, 田中芳彦. 宿主免疫応答による歯周病の病態形成機構の解明. 第 64 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2021 年 10 月 15 日~16 日.

(5) Nagao Jun-ichi, Kishikawa Sari, Toyonaga Kenji, Negoro-Yasumatsu Kanae, Tasaki Sonoko, Tanaka Yoshihiko. Th17-cell mediated immune response in the development of periodontitis. 第 50 回日本免疫学会学術大会, 2021 年 12 月 8 日~10 日.