

## 課題番号 31

## 口腔内病原微生物に対する抗原特異的免疫応答機構の解明

## [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)

分担者：岸川 咲史

(福岡歯科大学機能生物化学講座感染生物学分野)

分担者：豊永 憲司

(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 20 万円

## [2] 研究経過

口腔内に常在する微生物が原因となる感染症として、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* が原因となる歯周病や病原真菌 *Candida albicans* が原因となる口腔カンジダ症が知られている。

歯周病の病態形成には、宿主の免疫応答が関与し、サイトカイン IL-17A を産生する Th17 細胞が歯周病の病態形成に関わることが明らかになっている。近年、申請者は *P. gingivalis* 感染による歯周病マウスモデルを構築し、歯周病の病態形成は、口腔と腸管の免疫ネットワークにより形成されることを報告した (*Cell Rep.* 40:111314, 2022)。一方、口腔カンジダ症に関しては、Th17 細胞が感染防御に重要な役割を果たし、Th17 細胞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。申請者は、*C. albicans* 感染による口腔カンジダ症マウスモデルを構築している (*FEMS Yeast Res.* 18: foy018, 2018)。しかしながら、歯周病および口腔カンジダ症における Th17 細胞の制御機構は不明な点が多い。*P. gingivalis* および *C. albicans* がそれぞれの疾患において Th17 細胞応答の抗原になると考えられるが、抗原ペプチドは不明であり、また責任 Th17 細胞の T 細胞受容体は特定されていない (図 1)。本研究では、口腔感染症である歯周病と口腔カンジダ症に対する責任 Th17 細胞の T 細胞受容体 (TCR) を特定することを目的とする。

申請者は、これまでに加齢研担当教員・小笠原康悦博士との共同研究の中で、歯周病マウスモデルを用いて、歯周病における責任 Th17 細胞の TCR レパトア解析

を行ってきた。本共同研究では、これまでの共同研究の実績を生かして、歯周病に関しては、これまでに特定しつつある TCR 以外の候補 TCR をレパトア解析により探索する。口腔カンジダ症に関しては、歯周病の TCR 解析を参考にし、責任 Th17 細胞の TCR レパトア解析を行う。

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、歯周病と口腔カンジダ症のマウスモデルの構築、Th17 細胞による免疫応答の解析、免疫組織の単離、RNA サンプルの作成、T 細胞受容体レパトア解析のための準備等を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。本共同研究の打合わせは、学会参加時の対面での打合わせの他、電子メール等によって行った。

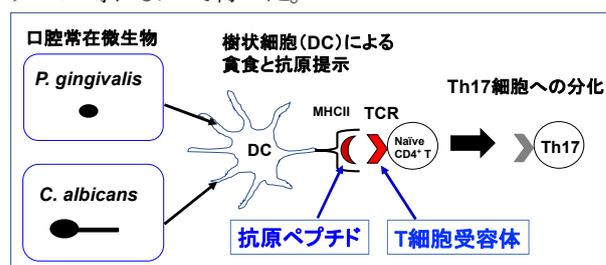


図 1. 口腔病原微生物による Th17 細胞の誘導

## [3] 成果

## (3-1) 研究成果

本年度は、特に口腔カンジダ症に注力し、申請者らが構築した口腔カンジダ症マウスモデルを用いて、T 細胞受容体レパトア解析のための条件を検討した。

まず、*C. albicans* の口腔感染による口腔カンジダ症の病態を評価する系を構築した。感染により舌組織に形成される白苔の面積を病態スコアとして評価し、さらに舌組織における *C. albicans* の菌数を寒天培地上に形成されるコロニー数 colony-forming unit (CFU) として評価した。さらに、舌組織の組織標本を作成し、PAS 染色することで、病態を組織学的に解析した。その結果、*C. albicans* の口腔感染により、病態スコアと CFU の増加が認められた。また、組織学的解析により、*C. albicans* の菌糸形細胞が舌組織に侵入し、それに伴い多形核白血球が集積することが分かった。

次に、口腔カンジダ症における責任 Th17 細胞を解析するために、口腔の所属リンパ節である頸部リンパ節における Th17 細胞を解析した。口腔感染後に頸部リンパ節の細胞をフローサイトメーターで解析した

結果、Th17 細胞の増加が確認された。

以上のように、本研究により口腔カンジダ症の責任 Th17 細胞の T 細胞受容体レパトア解析のための有益な情報を得ることができた。今後は、検討した条件を用いて、*C. albicans* 応答性の Th17 細胞から RNA を調製する。その後、調製した RNA を用いて、小笠原康悦博士により T 細胞受容体を構成する  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖の配列を次世代シーケンサーにより決定することで、T 細胞受容体レパトア解析を進めたいと考えている。

### (3-2) 波及効果と発展性など

Th17 細胞は、歯周病の病態形成に関わる一方で、口腔カンジダ症に対しては感染防御に重要な役割を果たす。Th17 細胞の多様な機能のため、生体内の Th17 細胞の全体の機能を抑制する戦略ではなく、疾患特異的な Th17 細胞を制御する新たな免疫療法が望まれる。本共同研究により、歯周病や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、それぞれの疾患に対する特異的な責任 Th17 細胞を制御する新しい免疫療法の開発が可能になると期待される。

本共同研究により特定した T 細胞受容体を構成する  $\alpha$  鎖と  $\beta$  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できれば、歯周病および口腔カンジダ症に対する疾患特異的なマウスモデルを構築することができる。以上のように本研究を発展させることにより口腔感染症研究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, 中上昌信, 岸川咲吏, 豊永憲司, 加地英美, 岩沼青葉, 根来 (安松) 香奈江, 田崎園子, 田中芳彦. 口腔と腸管の免疫ネットワークによる歯周病の病態形成機構. 第 65 回歯科基礎医学会学術大会, 2023 年 9 月 16 日~18 日.

(2) 岸川咲吏, 永尾潤一, 豊永憲司, 加地英美, 中上昌信, 岩沼青葉, 田崎園子, 根来 (安松) 香奈江, 田中芳彦. 口腔感染症による脳への神経免疫学的影響の解析. 第 65 回歯科基礎医学会学術大会, 2023 年 9 月 16 日~18 日.

(3) 豊永憲司, 永尾潤一, 水上昂, 田崎園子, 加地英美, 岸川咲吏, 中上昌信, 岩沼青葉, 根来 (安松) 香奈江, 田崎園子, 田中芳彦. *Candida albicans* 口腔感染における免疫受容体シグナル関連分子の役割. 第 65 回歯科基礎医学会学術大会, 2023 年 9 月 16 日~18 日.

(4) Jun-ichi Nagao, Masanobu Nakagami, Sari Kishikawa, Kenji Toyonaga, Emi Kaji, Aoba Iwanuma, Kanae Negoro-Yasumatsu, Sonoko Tasaki, Satoru Iwai, Yoshihiko Tanaka. Mucosal immune network of

Th17 cells via oral-gut axis exacerbates the development of periodontitis. 第 52 回日本免疫学会学術大会, 2024 年 1 月 17 日~19 日.

(5) Sari Kishikawa, Jun-ichi Nagao, Kenji Toyonaga, Emi Kaji, Masahiro Nakagami, Aoba Iwanuma, Sonoko Tasaki, Kanae Negoro, Satoru Iwai, Yoshihiko Tanaka. Analysis of periodontal disease induced cognitive impairment behavior in mice. 第 52 回日本免疫学会学術大会, 2024 年 1 月 17 日~19 日.

(6) Kenji Toyonaga, Jun-ichi Nagao, Sonoko Tasaki, Masayuki Umemura, Sari Kishikawa, Emi Kaji, Aoba Iwanuma, Masanobu Nakagami, Kanae Negoro-Yasumatsu, Satoru Iwai, Yoshihiko Tanaka. Functional analysis of signaling adaptor in a murine oral candidiasis model. 第 52 回日本免疫学会学術大会, 2024 年 1 月 17 日~19 日.