

SYIA-01

Porphyromonas gingivalis は腸内細菌叢を変化させ、骨格筋における糖取り込みを阻害する

渡辺 数基

キーワード：*Porphyromonas gingivalis*, メタボリックシンドローム, 骨格筋

【目的】近年、歯周病とメタボリックシンドローム（MS）との関連が示唆されている。様々な報告がなされているが、全身の糖代謝調節において基幹的役割を担っている骨格筋との関連を示す報告は未だ無い。本研究では、MS患者における歯周病原細菌の感染と臨床指標との関連を評価した上で、*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の嚥下感染モデルマウスを用いて *Pg* の骨格筋における糖代謝、腸内細菌叢に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】MS患者35名の歯周病原細菌の血清抗体価を測定した。また、8週齢雄C57BL/6Jマウスに高脂肪食（HF）を与え、 10^8 cellsの *Pg* (*Pg*群) または生理食塩水を週2日経口投与した。6週後に糖負荷試験、インスリン負荷試験、 μ CTによる骨格筋の脂肪化評価を行い、LC-MS/MSを用いて遅筋と速筋への糖取り込みを評価した。TNF α のマウス筋芽細胞株（C2C12）への糖取り込みを与える影響を検討し、更にマイクロアレイ解析及び腸内細菌叢解析を行った。

【結果と考察】MS患者では *Pg* の血清抗体価と骨格筋脂肪化マーカーとの間に有意な関連を認めた。*Pg*群では耐糖能異常、インスリン抵抗性が認められ、骨格筋の脂肪化が亢進した。さらに遅筋への糖取り込みが阻害され、Gene Set Enrichment AnalysisではTNF α signaling via NF κ Bの発現が上昇し、C2C12においてTNF α は糖の取り込みを阻害した。また腸内細菌叢解析においても変化が認められた。

【結論】*Pg*は腸内細菌叢を変化させ、骨格筋への糖取り込みを阻害し代謝異常を引き起こす可能性が示唆された。

SYIA-03

アメロジェニン はマクロファージにおけるCIITAのプロモーターIV領域のユークロマチン化を阻害しIFN γ 誘導性のMHCクラスII抗原提示を抑制する

四本 かれん

キーワード：アメロジェニン, マクロファージ, 抗原提示, MHC class II, CIITA

【目的】歯周外科時にエナメル基質タンパク質（EMD）を使用すると、術後の炎症反応が少なく治癒機転が良好であることが経験的に知られている。我々はEMDの主成分であるアメロジェニン（rM180）が単球における主要組織適合遺伝子複合体クラスII（MHC II）の遺伝子発現を抑制することを見出した。そこで、rM180がマクロファージにおけるIFN γ 誘導性のMHC II抗原提示能に与える影響を検討した。

【材料と方法】ヒト単球株THP-1をrM180で24時間処理後、IFN γ にて24時間刺激し、以下の検討を行なった。

- ①MHC IIの細胞表面発現の確認：フローサイトメトリー法
- ②rM180の細胞内への取り込み：免疫蛍光染色
- ③抗原提示によるT細胞の活性化：混合リンパ球反応（MLR）
- ④シグナル伝達経路解析：リアルタイムPCR法、ウェスタンブロット法
- ⑤ヒストン修飾：クロマチン免疫沈降法

【結果と考察】rM180はIFN γ 刺激によるMHC IIの遺伝子および細胞表面発現を減少させた。またrM180刺激後15分でマクロファージ核内に集積し、MHC IIトランス活性化因子（CII TA）の発現を抑制した。さらにrM180によりCIITAプロモーターIV領域のH3K27ac, H3K4me3（ユークロマチン化：転写活性の促進）が抑制を受けた。その結果、MLRにおいてT細胞活性マーカーの発現量、T細胞増殖能、IL-2産生量が低下し、T細胞活性が抑制された。つまりrM180はマクロファージ核内のクロマチン構造を変換しユークロマチン化を抑制することでCII TAの転写・翻訳を阻害し、MHC II発現を抑制した。これにより抗原提示能が低下した。

【結論】アメロジェニンによる歯周外科術後の創傷治癒促進機序の一端が説明できる可能性、および将来的にアメロジェニンが移植医療の場などで免疫抑制剤として応用できる可能性が示唆された。

SYIA-02

エリスロマイシンによるDEL-1誘導を介した破骨細胞の制御

田村 光

キーワード：エリスロマイシン, DEL-1, 破骨細胞

【目的】マクロライド系抗菌薬エリスロマイシンは抗炎症作用を有し、過度な好中球の集積抑制や破骨細胞分化の抑制効果等、種々の免疫制御作用を持つことが報告されている。一方、内因性抗炎症因子であるDevelopmental endothelial locus-1（DEL-1）は、破骨細胞の分化能および骨吸収能の抑制効果を持ち、歯周炎組織において発現が減少することが明らかとなっている。そこでエリスロマイシンが、歯周炎組織において減少したDEL-1を誘導することで、炎症性骨吸収に対し抑制作用を示すと仮説を立て検証した。

【材料と方法】マウス歯周炎モデルにおいて、エリスロマイシンを1日1回腹腔内投与し、歯槽骨吸収に対する効果を検証した。9日後に回収したマウス歯周組織サンプルから、破骨細胞関連遺伝子の発現量を測定し、さらに作製した骨標本ならびに組織凍結切片から、歯槽骨吸収量、DEL-1の局在、破骨細胞数等を検討した。また、*In vitro*ではマウス骨髄マクロファージ（BMM）から分化させた破骨細胞を使用した実験を行い、エリスロマイシンの破骨細胞の分化能ならびに骨吸収能に対する影響を解析した。

【結果と考察】マウス歯周炎モデルにおいて、エリスロマイシン投与により、歯根膜近傍に局在するDEL-1発現の増加を認め、さらに歯槽骨吸収量および破骨細胞数が有意に減少した。また、*In vitro*においてはエリスロマイシンの添加による破骨細胞の分化能および骨吸収能の抑制を認めた。以上より、エリスロマイシンはDel-1を誘導し、破骨細胞を制御することで、骨吸収に対する抑制効果を持つと考察された。

SYIA-04

HMGB1はM1マクロファージの分化を制御して歯周炎の進行に影響を及ぼす

平井 杏奈

キーワード：歯周炎, M1マクロファージ, HMGB1

【目的】High Mobility Group Box 1（HMGB1）は真核生物に存在する非ヒストン性タンパク質であり、組織の損傷や壊死によって細胞外へ放出されて炎症性サイトカインの発現を増強する。我々はこれまでにHMGB1中和抗体を投与することにより歯周組織の炎症だけでなく、歯槽骨の吸収も抑制することを明らかにした。本研究は、歯周炎の進行における詳細な役割を明らかにするために、HMGB1が歯周炎組織におけるマクロファージの分化と局在にどのような影響を及ぼすのかを調べた。

【材料と方法】野生型マウスの脛骨から採取した骨髄をマクロファージへと分化誘導し、lipopolysaccharide (*E. coli*, 10ng/mL), rhHMGB1 (10 μ g/mL), またはHMGB1中和抗体 (10ng/mL) を添加した。12時間後に細胞を回収して、フローサイトメトリーにてマクロファージの分布を解析した。さらに、野生型マウス、マクロファージ特異的HMGB1ノックアウトマウス、またはHMGB1中和抗体を投与した野生型マウスの歯周炎モデルを作成し、3日後に以下の解析を行った。まず全身でのHMGB1の影響を調べるために、腹腔内マクロファージの分布をフローサイトメトリーで解析した。また、①骨標本を用いた歯槽骨の吸収度測定、②定量RT-PCRを用いた炎症性サイトカイン又はケモカインである*IL-6*と*CXCL2*の遺伝子発現測定、そして③フローサイトメトリーおよび免疫染色法による歯周組織に遊走したM1マクロファージの割合と局在の測定を行った。

【結果と考察】HMGB1は培養条件下においてM1マクロファージへの分化を促進した。これと一致して、HMGB1ノックアウトマウスおよび中和抗体投与マウスでは腹腔内と歯周炎組織におけるM1マクロファージの分布が有意に低下した。さらに、これらのマウスでは歯周炎による歯槽骨の吸収が抑制され、歯周炎組織における*IL-6*と*CXCL2*の遺伝子発現量が減少した。以上の結果から、HMGB1はM1マクロファージの分布を全身と局所で制御して炎症をコントロールすることで、歯周炎の進行に影響を及ぼすと考える。

【結論】HMGB1は、マクロファージの分化調整を介して、歯周炎の進行に関与する可能性がある。

キーワード：関節リウマチ, *Porphyromonas gingivalis*, 腸内細菌叢

【目的】 関節リウマチ (RA) は、シトルリン化タンパク質 (CP) に対する自己抗体に関連した自己免疫疾患である。RA は歯周炎や喫煙などの環境因子によって重症化しやすい。一方、歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) は、歯周炎を生じさせるだけでなく、腸内細菌叢にも響を与えることが近年報告されている。そこで本研究では、Pg 感染による腸内細菌叢の変化と関節炎の増悪との関係について検討した。

【材料と方法】 SKG マウスにラミナリン (LA) を投与することで誘導する RA モデル (4-6 週齢, 雌) に、Pg W83 (10^8 CFU) を週 2 回口腔投与し、6 週間後に腸内細菌叢と RA の重症度を評価した。更に、同マウスの糞便を回収し、抗生物質にて前処理したレシピエント SKG マウス (4-6 週齢, 雌) に糞便移植を行った。その後 LA 投与によって RA を誘導し、LA 投与 6 週間後の腸内細菌叢の変化、腸組織中の炎症、関節炎の程度を評価した。

【結果と考察】 RA モデルに対する Pg 口腔感染が、腸内細菌叢を変化させ、RA の重症化を引き起こした。Pg 感染によって変化した腸内細菌を糞便移植した SKG マウスでは、Pg の口腔感染が生じていなくても RA を重症化させた。更に、糞便移植による RA の発症は、Pg を口腔感染させた SKG マウスよりも早期から生じていた。また、糞便移植群の腸組織中では、IL-6 と CP の発現が上昇していた。以上のことから、Pg 口腔感染による腸内細菌叢の変化が、腸内における炎症惹起、CP 産生を促し、その結果生じる自己抗体が RA を増悪させる可能性がある。

【結論】 Pg 口腔感染は腸内細菌叢を変化させ、その結果として腸内の炎症性変化を誘導し、RA の増悪に関与している可能性がある。