

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592802

研究課題名(和文) 歯周パラ・インフラメーションから脳をまもる髄膜 グリア防御システム破綻の解明

研究課題名(英文) Mechanism of the rupture of meningeal-glia limitans during chronic Periodontitis

研究代表者

武 洲 (Take, Hiro)

九州大学・歯学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10420598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：近年、歯周病はアルツハイマー病のリスク因子として注目されている。本研究は歯周病を低レベルの末梢炎症状態と捉え、『脳をまもる髄膜-グリア防御システム破綻を引き起こし、脳炎症ならびに学習・記憶障害をもたらす』可能性とそのメカニズムについて検討を行った。その結果、歯周病菌とその関連成分(LPS)によりTLR2依存的に脳髄膜細胞から分泌される炎症因子を介してミクログリアが活性化され、中年マウスにおける学習・記憶障害を引き起こすことが明らかになった。さらに、老化に伴うミクログリアの反応性増大が、アルツハイマー病の脳においてアミロイドbetaを介した脳炎症を増幅する重要なファクターとなることが示唆される。

研究成果の概要(英文)：Recently, Periodontitis has been accepted as a risk factor of Alzheimer's disease. In the current study, we investigate the possibility and the mechanism of our hypothesis, which 「Periodontitis, as a long term of low-grade systemic inflammation, can induces a breakdown of meningeal-glia protective system in brain, result in neuroinflammation-related memory loss」. We found that Periodontitis bacteria (Porphyromonas Gingivalis, PG) and its LPS (PGLPS) induced a TLR2 dependent inflammatory mediator production by meningeal cells to activate microglia, resulting in impairment of learning and memory in the middle-aged mice. Moreover, the amplifying of microglia response with aging is a risk factor for neuroinflammation in Aβ dependent manner in the brain of Alzheimer's disease.

研究分野：神経免疫科学、加齢科学

キーワード：歯周病 ミクログリア 髄膜 アルツハイマー病

### 1. 研究開始当初の背景

本研究代表者は長年に渡り「末梢炎症の脳機能に及ぼす影響」の研究により、若齢関節炎ラットでは脳実質内のグリア細胞は抗炎症性メディエーター (IL-10 ならびに TGF- $\beta$ 1) を産生し「脳保護的」に反応すること、一方、中年ラットでは脳実質内のグリア細胞は炎症性メディエーター (IL- $\beta$  ならびに PGE<sub>2</sub> 合成酵素) を産生し「脳傷害的」に反応することを明らかにしてきた。

炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  など) は学習・記憶行動を悪化させ、学習・記憶の細胞レベルでの基盤になっていると考えられている海馬における長期増強現象 (LTP) を低下させることが知られている。これらの事実より「歯周病が特に中高年者において慢性的な脳炎症を引き起こし、認知機能の低下を促進するのではないか」という考えに至った。

### 2. 研究の目的

本研究では、歯周病を低レベルの炎症状態 (パラ・インフラメーション) として捉え、脳保護システムの破綻により脳炎症ならびに学習・記憶障害が誘導される可能性を検討し、歯周病はアルツハイマー病のリスク因子としてそのメカニズムの解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

培養マクロファージ、髄膜細胞、ミクログリアを用い、PG 菌ならびに PG 由来 LPS 刺激によりそれぞれ細胞における炎症性メディエーターの産生を解析し、「末梢炎症に伴う髄膜-グリア防御システム破綻を引き起こし、脳炎症をもたらす」について検討を行った。さらに、PG 菌ならびに PGLPS を全身投与し、C57BL/6 マウス脳内におけるアミロイド  $\beta_{1-42}$  ( $A\beta_{1-42}$ ) のニューロン内蓄積ならびに学習・記憶への影響について検討を行った。

### 4. 研究成果

培養マクロファージ、髄膜細胞、ミクログリアを用い、PG 由来 LPS 刺激よりそれぞれの細胞における炎症性メディエーターの産生動態

について解析を行った結果、PG 由来 LPS は TLR2 依存的にマクロファージを介して、髄膜細胞から IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  の産生を誘導し、また、PG 由来 LPS は TLR2 依存的に髄膜細胞を介してミクログリアを活性化し、IL-1 $\beta$  の産生分泌を誘導することが明らかになった。このことから、PG 由来 LPS は髄膜細胞を介して深刻な脳炎症を引き起こすことが示唆された。興味深いことに、 $A\beta_{1-42}$  は中年マウスの脳より単離したミクログリアにおいてのみ IL-1 $\beta$  の産生分泌を誘導した。これは若齢マウスの脳より単離したミクログリアでは  $A\beta_{1-42}$  による NF $\kappa$ B 活性化が十分ではなく、老化に伴って細胞内レトクス環境の変化により NF $\kappa$ B が活性化されるためと考えられる。

さらに、PG 由来 LPS の全身投与が、中年 C57BL/6 マウス脳内におけるアミロイド  $\beta_{1-42}$  ( $A\beta_{1-42}$ ) のニューロン内蓄積ならびに学習・記憶障害を引き起こすことを見出した。

これらのことから、歯周病菌とその関連成分が LPS は TLR2 依存的に髄膜細胞から分泌される炎症性因子を介してミクログリア活性化し、脳炎症を引き起こす経路の存在が明らかになった。また、老化に伴うミクログリアの反応性増大がアルツハイマー病の脳において  $A\beta$  を介した脳炎症を増幅する重要なファクターとなることが示唆される (図 1)。

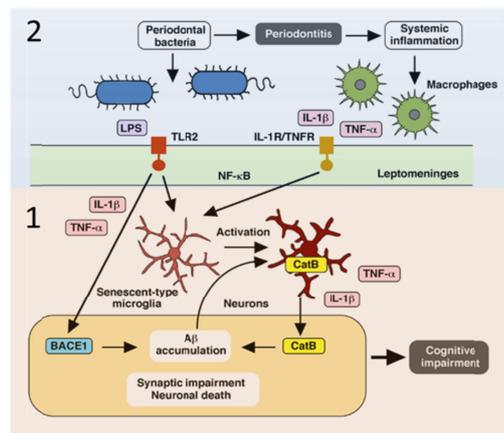


図 1 歯周病に伴う髄膜-グリア防御システム破綻による脳炎症と学習・記憶障害

## 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

Li Sun, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Christoph Peters, Makoto Tsuda, Kazuhide Inoue, Hiroshi Nakanishi “ Microglial cathepsin B contributes to the initiation of peripheral inflammation-induced chronic pain”, *Journal of Neuroscience*, Vol 32, No. 33, pp. 11330-11342, 2012 (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0677-12.2012)

Xia Liu, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Hiroshi Nakanishi, “ Age-dependent neuroinflammatory responses and deficits in long-term potentiation in the hippocampus during systemic inflammation, ” *Neuroscience*, Vol. 216, pp. 133-142, 2012 (DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.04.050)

Zhou Wu, Li Sun, Sadayuki Hashioka, Yu S, Schwab C, Ryo Okada, Yoshinori Hayashi, Patrick L McGeer PL, Hiroshi Nakanishi, “ Differential pathways for interleukin-1 $\beta$  production activated by chromogranin A and amyloid  $\beta$  in microglia ” , *Neurobiology of Aging* , Vol. 34, No. 12, pp. 2715-2725, 2013(10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.018. Epub 2013 Jul 4)

Fumiko Takayama, Zhou Wu, Hong Ma HM, Okada R, Yoshinori Hayashi, Hiroshi Nakanishi H, “ Possible involvement of aiPLA<sub>2</sub> in the phosphatidylserine-containing liposomes induced production of PGE<sub>2</sub> and PGD<sub>2</sub> in microglia ” , *Journal of Neuroimmunology*, Vol. 262, No 1-2, pp. 121-124, 2013 (DOI: 10.1016/j.jneuroim.2013.06.011. Epub 2013 Jul 11)

Yoshinori Hayashi, Satoru Koyanagi, Nooki Kusunose, Fumiko Takayama , Ryo Okada, Zhou Wu, Ryo Okada, Shigehiro Ohdo , Hiroshi Nakanishi, “Diurnal spatial rearrangement of microglial processes through the rhythmic expression of P2Y<sub>12</sub> receptors ” , *Journal of Neurological Disorders*, 1:2, 2013 (DOI: 10.4172/jnd.1000120)

Zhou Wu, Aiqin Zhu, Fumiko Takayama, Ryo Okada, Yicong Liu, Yuka Harada, Shizheng Wu, Hiroshi Nakanishi, “Brazilian

green propolis suppresses the hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF- $\kappa$ B activation in microglia”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013: 906726 (DOI: 10.1155/2013/906726. Epub 2013 Aug 1)

Yoshinori Hayashi, Satoru Koyanagi , Naoki Kusunose, Ryo Okada, Zhou Wu, Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Kiyoharu Ukai, Shinichi Kohsaka, Kazuhide Inoue, Shigehiro Ohdo, Hiroshi Nakanishi, “ The intrinsic microglial molecular clock controls synaptic strength via the circadian expression of cathepsin S”, *Scientific Reports*, 3, 2744, 2013 (DOI: 10.1038/srep02744)

Yicong Liu, Zhou Wu, Xinwen Zhang, Junjun Ni, Weixian Yu, Yanmin Zhou, Hiroshi Nakanishi, “ Leptomeningeal cells transduce peripheral macrophages inflammatory signal to microglia in response to Porphyromonas gingivalis LPS”, *Mediators of Inflammation*, 2013: 407562 (DOI: 10.1155/2013/407562. Epub 2013 Dec 2)

Xinwen Zhang, Zhou Wu, Yoshinori Hayashi, Ryo Okada R, Hiroshi Nakanishi, “ Peripheral role of cathepsin S in Th1 cell-dependent transition of nerve injury-induced acute pain to a chronic pain state.” *Journal of Neuroscience*, Vol 34, No. 8, pp. 3013-3022, 2014 (DOI: 0.1523/JNEUROSCI.3681-13.2014)

Yoshinori Hayashi, Yuka Koga, Xinwen Zhang, Christoph Peters, Yanagawa Y, Zhou Wu, Takeshi Yokoyama, Hiroshi Nakanishi, “Autophagy in superficial spinal dorsal horn accelerates the cathepsin B-dependent morphine antinociceptive tolerance”, *Neuroscience*, Vol. 275, pp. 384-394, 2014 (DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.06.037)

Ryo Okada, Zhou Wu, Aiquin Zhu, Junjun Ni, Zhang J, Yoshito Yoshimine, Christoph Peters, Paul Saftig, Hiroshi Nakanishi, “Cathepsin D deficiency induces oxidative damage in brain pericytes and impairs the blood-brain barrier”, *Molecular and Cellular Neuroscience*, Vol. 64, pp. 51-60, 2015 (DOI: 10.1016/j.mcn.2014.12.002.)

Zhou Wu, Hiroshi Nakanishi, Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: possible roles of microglia and leptomeningeal cells. *Journal of*

Pharmacological Sciences, Vol. 126, No.1, pp. 8-13, 2014 (DOI: 10.1254/jphs.14 R11CP)

〔学会発表〕(計 14 件)

孫麗、武 洲、林 良憲、中西 博、「クロモグラン A の慢性炎症疼痛における役割の解析」第 54 回歯科基礎医学会学術大会、郡山、9 月 14 日～16 日、2012 年

武 洲、中西 博、「クロモグラン A はβアミロイドよりも強力にミクログリアにおける IL-1βの産生を誘導する」第 65 回日本薬理学会西南部会、熊本、11 月 23 日、2012 年

Wu Zhou Nakanishi H, 「Cathepsin B-dependent novel IL-1β production pathway in microglia」Kudai Oral Bioscience 2013 (招待講演)、福岡、3 月 7 日～9 日、2013 年

Wu Zhou Nakanishi H, 「Potential roles of chromgranin A in Cathepsin B-dependent IL-1β production by microglia in Alzheimer's disease」第 86 回日本薬理学会、福岡、3 月 21 日～23 日、2013 年

Wu Zhou, 「Slow Brain-Aging for regulation of Systemic inflammation and microglia」Institute of Geriatric Qinghai Provincial Hospital (招待講演), Xining, Qinghai, China, 8 月 16 日、2012 年

武 洲、中西 博、「クロモグランによるミクログリアにおけるカテプシン B に依存した IL-1βの新規産生経路の解明」第 55 回歯科基礎医学会学術大会、岡山、9 月 22 日、2013 年

岡田 亮、武 洲、倪 軍軍、中西 博、「Batten 病モデルマウスにおける脳ペリサイトの酸化ストレス障害と血液脳関門の破綻」第 18 回グリア研究会、仙台、10 月 26 日、2013

張 馨文、武 洲、林 良憲、中西 博、

「神経障害性疼痛の慢性化におけるカテプシン S の役割」第 66 回日本薬理学会西南部会、福岡、11 月 16 日、2013 年

張 馨文、武 洲、林 良憲、中西 博、「神経障害性疼痛の慢性化における Th1 細胞の関与」第 87 回日本薬理学会、仙台、3 月 19 日～21 日、2014 年

武 洲、中西 博、「The possible link between periodontitis and Alzheimer's Disease」中国薬理学会・老年医学会・認知機能障害と関連疾患シンポジウム(招待講演)、Xining, Qinghai, China, 8 月 9 日、2014 年

武 洲、中西 博、「歯周病菌による脳髄膜を介したミクログリアの活性化」第 56 回歯科基礎医学会学術大会、サテライトシンポジウム 福岡、9 月 25 日、2014 年

高山 扶美子、林 良憲、武 洲、中西 博、「2 種類のミクログリア突起の日内変化に関する形態学的ならびに生体イメージング解析」第 56 回歯科基礎医学会学術大会、福岡、9 月 25 日、2014 年

JunJun Ni、武 洲、中西 博、「Cathepsin B is positive phenotype switch the M1-M2 phenotypic continuum of microglia/macrophages」第 19 回グリア研究会、東京、12 月 6 日、2014

武 洲「歯周病によるアルツハイマー様病態の促進メカニズム」第 87 回日本薬理学会シンポジウム、名古屋、3 月 18 日～20 日、2015 年

〔図書〕(計 2 件)

Hiroshi Nakanishi & Zhou Wu, 「Interleukin-1: Genetics, Inflammatory Mechanisms and Role in disease」Nova Science Publishers, Inc. New York, 2013, in press

Zhou Wu & Hiroshi Nakanishi, 「Tumor Necrosis Factor: Structure, Enzyme, Regulation and Role in Health

and Disease」 Nova Science Publishers,  
Inc. New York, 2012, p113-128

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/koza/koku\\_u\\_jotai\\_seigyo/koku\\_kinou\\_bunshi/kenkyu\\_gaiyo.html](http://www.dent.kyushu-u.ac.jp/koza/koku_u_jotai_seigyo/koku_kinou_bunshi/kenkyu_gaiyo.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武 洲 (TAKE, Hiro)

九州大学・歯学研究院・准教授

研究者番号： 10420598

(2) 研究分担者

中西 博 (NAKANISHI, Hiroshi)

九州大学・歯学研究院・教授

研究者番号： 20155774

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：