

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15252

研究課題名(和文) 口腔免疫の恒常性の破綻と臓器連関のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms underlying the deficiency of oral immunity and its effect on systemic organ network

研究代表者

小松 紀子 (Komatsu, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教

研究者番号：20553358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：口腔は固有の口腔細菌叢と免疫系を有している。歯周病では細菌感染が引き金となり歯を支える骨の破壊が起こるが、そのメカニズムは不明な点が多い。申請者らが以前同定した関節リウマチを悪化させる新規T細胞が、歯周病においても最強の骨破壊誘導性T細胞として骨破壊をおこす一方で、口腔細菌の制御により生体防御に貢献するという新たな機能を見出した。本研究において新規T細胞が特異的に発現するマーカーを複数同定することに成功しており、局所の組織破壊と全身性の生体防御の二面性を考慮した口腔臓器免疫連関の制御法の確立に繋がるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Oral cavity harbors unique oral microbiota and immune system. In periodontitis, infection of pathogenic bacteria disturbs the homeostasis of oral microbiota, which eventually results in the loss of bone that is important for supporting teeth. However, the mechanism of bone loss in periodontitis has not been fully understood. In this study, we found that a novel arthritogenic T cell subset which we identified previously turned out to be the most potent bone-damaging T cells in periodontitis. Interestingly, the bone-damaging T cells contribute to the host defense by regulating the quality and quantity of oral microbiota. We identified several molecules that are specifically expressed in the bone-damaging T cells, which will contribute to establish the methods to regulate immunological association between oral cavity and remote organs by modulating local tissue destruction and the systemic host defense.

研究分野：免疫学

キーワード：口腔免疫 骨破壊 T細胞

1. 研究開始当初の背景

口腔は固有の常在細菌叢と免疫系を有する臓器であるが、口腔内細菌に対する生体防御機構は未だ不明な点が多い。細菌感染が引き金となり口腔免疫の恒常性が破綻する症例として知られる歯周炎はもっとも罹患率の高い疾患のひとつでもある。歯周炎は関節リウマチと同様に、免疫系が活性化して骨破壊がおこる炎症性骨疾患に分類されるが、どのような免疫異常により病態が形成されるかは不明である。近年、関節リウマチ患者では腸内細菌だけでなく口腔内細菌の恒常性も破綻していることが報告されるなど口腔-臓器免疫連関が注目されている。

申請者らは歯周病と同じ炎症性骨疾患に分類される関節リウマチにおいて Foxp3⁺T 細胞が炎症と骨破壊を惹起する新規 Th17 細胞サブセット(exFoxp3Th17 細胞)に分化転換することを見出している。しかしながら exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤や、口腔免疫ならびに口腔-臓器免疫連関における病理的意義は未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、exFoxp3Th17 細胞が口腔免疫の活性化や骨破壊、口腔内細菌を制御することで臓器免疫連関を担う可能性を鑑みて、exFoxp3Th17 細胞に着眼し、その病原性を司る分子基盤の解明、口腔内恒常性の破綻時における病理的意義の解明を目的として研究を行った

3. 研究の方法

(1)exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤の解明

exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤を明らかにするためトランスクリプトームおよびプロテオーム解析を行った。また、試験管内での exFoxp3Th17 細胞の分化制御に関与する因子の探索を行い候補遺伝子をスクリーニングした。CRISPR-Cas9 システムを用いて候補遺伝子をターゲットとした遺伝子欠損マウスの樹立を試みた。

(2)口腔内恒常性の破綻時における exFoxp3Th17 細胞の病理的意義の解明

口腔内恒常性の破綻の代表的疾患である歯周炎を誘導し、Foxp3⁺T 細胞から exFoxp3Th17 細胞への分化転換が起こるかどうかを Foxp3 fate mapping マウスを用いて検討した。歯を支持する歯槽骨の骨破壊や口腔内細菌の制御における exFoxp3Th17 細胞の関与を、細胞移入系や分化阻害系と、FACS や μ CT 解析、16S rRNA gene sequencing 法を組み合わせ検討を行った。また、歯槽骨の骨破壊は感染巣である歯の脱落を促すが、感染制御における骨破壊の病理学的意義の有無を検討するため、歯周炎環境下において口腔内細菌が全身性に伝播するかどうか、さらに抜歯により口腔内細菌の全身性への伝播が抑制されるかどうか検討を行った。

4. 研究成果

(1)exFoxp3Th17 細胞の病原性を司る分子基盤の解明

Foxp3⁺T 細胞由来の Th17 細胞の特異的発現因子群をマイクロアレイ、プロテオーム解析により同定した。遺伝子制御系を用いて分化転換に及ぼす機能を試験管内で評価し、候補分子を複数同定し、遺伝子欠損マウスを複数樹立した。今後も表現型解析を継続して進め、exFoxp3Th17 細胞の分化や病原性を司る分子基盤の解明に繋げる。

(2)口腔内恒常性の破綻時における exFoxp3Th17 細胞の病理的意義の解明

歯周炎においても細菌感染依存的に Foxp3⁺T 細胞から exFoxp3Th17 細胞への分化転換が起き、歯周組織に集積することが明らかとなった。exFoxp3Th17 細胞を移入すると炎症性サイトカインの産生や歯槽骨の骨破壊の増悪化が認められたその一方で、exFoxp3Th17 細胞の分化を阻害するとその抑制が認められた。したがって exFoxp3Th17 細胞が口腔内細菌感染によっておこる局所の免疫系の活性化と骨破壊の増悪化において主要な役割を担うことが明らかとなった。exFoxp3Th17 細胞の分化抑制により口腔内細菌の細菌の量的な抑制と質的な変化が認められたことから、exFoxp3Th17 細胞が口腔内細菌の局所での制御に関与することが明らかとなった。さらに、歯周炎環境下では口腔内細菌が全身性に伝播すること、抜歯により感染した歯を除去すると口腔内細菌の全身性への伝播や慢性的な炎症が抑制されることが見出された。

これらの実験結果から歯周病の急性炎症や骨破壊において exFoxp3Th17 細胞が重要な役割を果たすことが明らかとなった。その一方で、exFoxp3Th17 細胞は抗菌免疫の誘導と歯の脱落を介して口腔内細菌の局所での制御と全身への伝播の制御を行うことで感染防御や炎症の終焉に貢献することが示唆された。

本研究によって、exFoxp3Th17 細胞は、局所の組織破壊を誘導する悪玉細胞としての機能をもつ一方で、生体防御に寄与するという善玉細胞としての一面ももちあわせていることが明らかとなった。後者の役割をもつことが exFoxp3Th17 細胞、さらには Foxp3⁺T 細胞の分化可塑性が生体に保存されてきた所以のひとつであると考えられる。本研究において、新規 T 細胞が特異的に発現するマーカーを複数同定することに成功しており、局所の組織破壊と全身性の生体防御の二面性を考慮した口腔臓器免疫連関の制御法の確立に繋がるものと期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)全て査読あり

1. Tsukasaki M, Komatsu N, Nagashima K,

- Nitta T, Pluemsakunthai W, Shukunami C, Iwakura Y, Nakashima T, Okamoto K, Takayanagi H. Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells. *Nat Commun.* 16;9(1):701. (2018)
- Okamoto K, Nakashima T, Shinohara M, Negishi-Koga T, Komatsu N, Terashima A, Sawa S, Nitta T, Takayanagi H. Osteoimmunology: The Conceptual Framework Unifying The Immune and Skeletal Systems. *Physiol Rev.* 97(4):1295-1349 (2017)
 - Tsukasaki M, Hamada K, Okamoto K, Nagashima K, Terashima A, Komatsu N, Win SJ, Okamura T, Nitta T, Yasuda H, Penninger JM, Takayanagi H. LOX Fails to Substitute for RANKL in Osteoclastogenesis. *J Bone Miner Res.* 32(3):434-439 (2017)
 - Danks L, Komatsu N., Guerrini, Sawa S, Marietta Armaka M, Kollias G, Nakashima T, Takayanagi H. RANKL expressed on synovial fibroblasts is primarily responsible for bone erosions during joint inflammation. *Ann Rheum Dis.* 75(6):1187-95. (2016)

〔学会発表〕(計 12 件)

- 塚崎雅之、小松紀子、Warunee Pluemsakunthai, 高柳広
骨破壊性 T 細胞による口腔細菌感染制御
第 3 回日本骨免疫学会 ウィンターセミナー
(招待講演) 2018 年 1 月 ホテルマロウド軽井沢 軽井沢町、長野県
- 塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広
Foxp3 陽性 T 細胞に由来する Th17 細胞の歯周炎における役割 先端歯学スクール 2017
2017 年 8 月 東京医科歯科大学 文京区、東京都
- Masayuki Tsukasaki, Noriko Komatsu and Hiroshi Takayanagi
exFoxp3Th17 cells, a bone-damaging T cell subset in periodontal disease
第 65 回 国際歯科研究学会 日本部会総会・学術大会 2017 年 11 月 昭和大学 品川区、東京都
- 小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広
関節炎の骨破壊における免疫系と滑膜線維芽細胞の協調作用 第 4 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2017 年 10 月 アキバホール 千代田区、東京都

5.

塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広
Foxp3 陽性 T 細胞に由来する Th17 細胞の歯槽骨破壊における役割 第 4 回 JCR ベーシックリサーチカンファレンス 2017 年 10 月 アキバホール 千代田区、東京都

6.

Warunee Pluemsakunthai, 塚崎雅之、小松紀子、高柳広
マウス歯周炎細菌叢の網羅解析システムの開発 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市、沖縄県

7.

塚崎雅之、小松紀子、中島友紀、高柳広
歯周炎における Foxp3 陽性 T 細胞の分化可塑性の役割 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市、沖縄県

8.

小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広
自己免疫性関節炎の骨破壊における免疫系と間葉系の相互作用 第 3 回日本骨免疫学会 2017 年 6 月 ANA インターコンチネンタル石垣リゾート 石垣市 沖縄県

9.

小松紀子
免疫が骨を壊すしくみ 第 62 回日本病理学会 秋期特別総会(招待講演) 2016 年 11 月 金沢市文化ホール 金沢市、石川県

10.

小松紀子、Lynett Danks、中島友紀、高柳広
自己免疫性関節炎における免疫系による破骨細胞の分化誘導機構 第 2 回日本骨免疫学会 2016 年 7 月 ホテルモンテ沖縄スパ&リゾート 恩納村、沖縄県

11.

小松紀子
免疫系による炎症性骨疾患の制御
第 37 回日本炎症再生医学会(招待講演) 2016 年 6 月 京都市勤業館 京都市 京都府

12.

Noriko Komatsu
Plasticity of Foxp3+T cells and its impact on autoimmune arthritis
Immunology AAI Annual Meeting 2016 年 5 月 Washington State Convention Center, Seattle, USA

〔図書〕(計 2 件)

1.

小松紀子 高柳広

医学のあゆみ 医歯薬出版社
259(2):165-169 (2016)

2.

小松紀子

CLINICAL CALCIUM 医薬ジャーナル社
26(5):683-9 (2016)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小松 紀子 (KOMATSU, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号 : 20553358