

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：37114

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19657

研究課題名（和文）歯周病原細菌がもたらす脳神経系と免疫系のクロストーク

研究課題名（英文）Bacterial-induced maternal interleukin 17A pathway promotes autistic-like behaviors in mouse offspring

研究代表者

田中 芳彦（Tanaka, Yoshihiko）

福岡歯科大学・口腔歯学部・教授

研究者番号：00398083

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：妊娠中の感染が自閉症や統合失調症に関与することが明らかになってきています。ウイルス感染の場合にはインターロイキン-17Aの産生を特徴とする活性化ヘルパーT細胞Th17が母体で誘導されたことが原因の一つであることが明らかにされました。しかし、細菌感染によるインターロイキン-17Aの影響は未だに明らかではありません。本研究では免疫学と脳神経学の視点から母体の細菌感染症が脳システム発達に与える影響を解析し、細菌感染において母体免疫系と胎児脳神経系に関連があることを明らかにしました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

母体マウスに細菌抽出物で擬似感染させたところ、仔マウスが自閉症様行動を示すようになりました。母体ではインターロイキン-17Aが上昇しており、中和抗体で除去すると健常な仔マウスが誕生することが分かりました。母体の細菌感染による免疫応答が胎児の脳神経発達に関連することを意味します。本研究によって、自閉症の原因の一つが妊娠中の細菌感染であることが動物実験で明らかになりました。

研究成果の概要（英文）：Maternal immune activation (MIA) by an infection is considered to be an important environmental factor of fetal brain development. Recent animal model on MIA induced by a mimic of viral infection, demonstrates that maternal interleukin-17A (IL-17A) signaling is required for the development of autism spectrum disorder (ASD)-like behaviors of offspring. However, there is little information on bacterial infection. In this study, we demonstrated that lipopolysaccharide (LPS)-induced MIA promoted ASD-like behaviors in mouse offspring. We further found that LPS exposure induced acute phase immune response: elevation of serum IL-17A levels in MIA mothers and upregulation of IL-17R mRNA expression in the fetal brain. Blocking of IL-17A in LPS-induced MIA ameliorated ASD-like behaviors in offspring. Our data suggest that bacterial-induced maternal IL-17A pathway promotes ASD-like behaviors in offspring.

研究分野：病態系口腔科学

キーワード：自閉スペクトラム症 脳神経系 免疫系 細菌感染

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまで免疫系は脳神経系とは無関係の領域として理解されてきましたが、最近になって脳神経系の発生発達に強く関わっていることが明らかにされ、ニューロimmunologyとして注目されています。脳システムは胎児期に劇的に発達することから、母体免疫活性化は極めて重要な環境的要因の1つになります。

母体の感染症と胎児の脳システム発達には関連性があり、例えば、妊娠期の風疹ウイルスやジカウイルスの感染は小頭症を伴う先天性障害を引き起こし、妊娠中のインフルエンザウイルス感染は統合失調症のリスクとなります。また、妊娠中の細菌感染も統合失調症のリスクとなることが知られています。しかし、原因は不明のままです。

最近になって、Choiらは妊娠マウスへウイルス類似物質 Poly(I:C)を投与する感染モデル実験により、母体でインターロイキン-17A (IL-17A) 産生を特徴とするヘルパーT細胞 Th17が誘導され、胎盤を介してIL-17Aが胎児脳神経系の発達を妨げることで自閉スペクトラム症を引き起こしていることを明らかにしました¹⁾。一方、細菌感染でのMIAのメカニズムについては依然として不明です。

2. 研究の目的

妊娠中の感染が自閉症や統合失調症に関わることが明らかになってきました。ウイルス感染の場合にはその分子・細胞実体が誘導された母体の活性化ヘルパーT細胞 Th17であることが示され、脳神経系と免疫系のクロストークが解明されました。しかしながら、細菌感染によるTh17細胞の影響は未だに明らかではありません。本研究はニューロimmunologyの視点から細菌感染症が脳システム発達に与える影響を解明し、細菌感染における脳神経系と免疫系の統合的理解を目的としました。

3. 研究の方法

(1) 母体免疫活性化における胎児を取り巻く母体免疫環境の解析

細菌感染症を模して動物実験で汎用される大腸菌由来リポ多糖 LPS を用いました。ウイルス感染を Poly(I:C)で模した MIA の実験系において、妊娠マウスで胎生 14.5 日の血清中 IL-17A 上昇が胎児脳神経系に影響を及ぼすことが明らかになっています¹⁾。大腸菌 LPS 投与 MIA の実験系において妊娠マウスで胎生 14.5 日の血清中 IL-17A 上昇を誘導する条件検討をしました。

(2) LPS による行動学的表現型の解析

仔マウスの行動実験解析を行いました。具体的には、仔マウスに対して生後 7~9 日齢で超音波発声アッセイ、8 週齢で 3 チャンバー社会的相互作用試験、9 週齢以降でビー玉埋めテストといった行動実験試験で脳神経系発達を解析しました。

(3) 病原性細菌によって誘発される胎児脳神経系発達の解析

胎生 14.5 日の胎児脳における IL-17 レセプターの mRNA 発現を定量的 PCR の手法で解析しました。

4. 研究成果

(1) 母体免疫活性化における胎児を取り巻く母体免疫環境の解析

大腸菌 LPS 腹腔投与 MIA の実験系において、胎生 14.5 日の血清中 IL-17A 上昇を誘導する条件検討をしたところ、胎生 14.0 日に大腸菌 LPS (0.05 $\mu\text{g/g}$ マウス) の母体へ投与が最適条件でした。LPS 投与 2 時間後の母体子宮組織において IL-17A が上昇することが分かりました (図 1)。

IL-17A-GFP レポーターマウスに大腸菌 LPS 腹腔投与 MIA の実験系で、子宮組織をフローサイトメトリーで解析したところ、MIA では IL-17A 産生 $\gamma\delta\text{T}$ 細胞の相対的な比率がやや上昇しており、絶対数が優位に増加していることを見出しました。一方、Th17 細胞については相対的な比率と絶対数はほぼ同等でした。これらのことから細菌感染による MIA では、子宮において $\gamma\delta\text{T}$ 細胞が IL-17A 産生をおこす責任細胞であることが示唆されました。

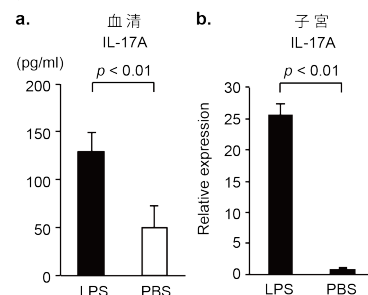


図1 大腸菌由来LPSによるIL-17Aの上昇

(2) LPS による行動学的表現型の解析

これらの条件で大腸菌 LPS 腹腔投与 MIA マウスから誕生した仔マウスの行動学的表現型を解析しました。

超音波発声アッセイ(生後 7~9 日齢)、ビー玉隠しテスト(生後 12 週齢)、3 チャンバー社会的相互作用試験(生後 12 週齢)で解析したところ、すべての行動実験において自閉症様行動を示すことを見出しました。また、大腸菌 LPS 投与の 8 時間前に IL-17A 中和抗体を母体に事前投与しておくことで、これらの自閉症様行動が認められなくなることが分かりました(図 2)。これらのことから細菌感染による MIA は、IL-17A 産生を介して胎児に自閉症様行動を引き起こ

すこと明らかになりました。

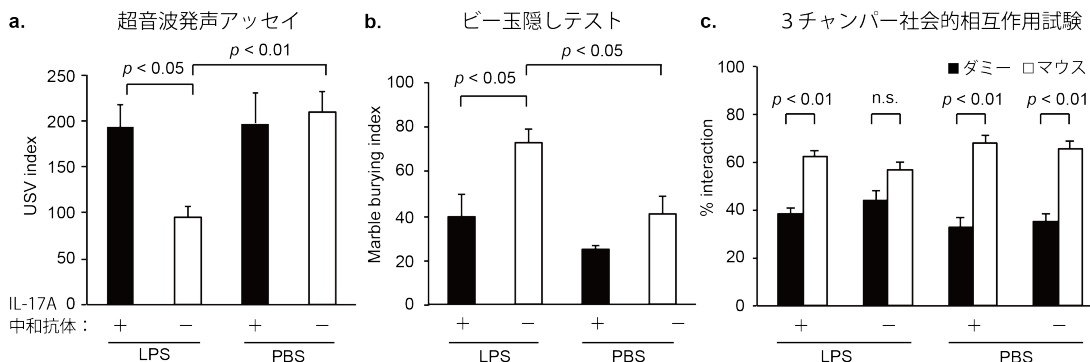


図2 細菌感染 MIA は IL-17A を介して仔マウスに自閉症様行動を引き起こす

(3) 病原性細菌によって誘発される胎児脳神経系発達の解析

大腸菌 LPS 腹腔投与 MIA の実験系において、胎生 14.5 日の胎児脳における IL-17 レセプターの mRNA 発現を定量的 PCR の手法で解析したところ、ウイルス感染 MIA と同様に IL-17 レセプターの発現が胎児脳組織において上昇していることが分かりました (図3)。

このように細菌感染での MIA のメカニズムについて、ウイルス感染と同様に母体で産生された IL-17A が胎盤を介して胎児脳神経系の発達を妨げることで自閉スペクトラム症を引き起こしていることが明らかになりました。細菌感染の MIA では $\gamma \delta$ T 細胞が子宮において IL-17A を産生することが示唆されました。細菌感染症が脳システム発達に与える影響の解析を研究計画に従って順調に進めることができ、研究期間内に研究成果を英文誌に報告しました²⁾。

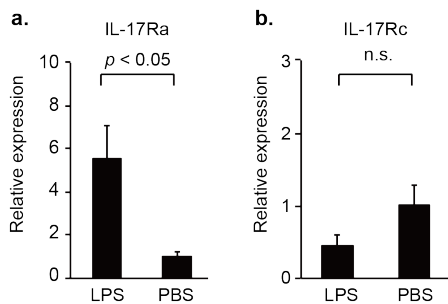


図3 胎児脳組織の IL-17 レセプターの上昇

〈引用文献〉

- 1) Choi, GB., Yim, YS., Wong, H., Kim, S., Kim, H., Kim, SV., Hoeffler, CA., Littman, DR. and Huh, JR. The maternal interleukin-17a pathway in mice promotes autism-like phenotypes in offspring. *Science* 351: 933-939, 2016.
- 2) Yasumatsu, K., Nagao, J., Arita-Morioka, K., Narita, Y., Tasaki, S., Toyoda, K., Ito, S., Kido, H. and Tanaka, Y. Bacterial-induced maternal interleukin-17A pathway promotes autistic-like behaviors in mouse offspring. *Exp. Anim.* 69: 250-260, 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yasumatsu, K., Nagao, J., Arita-Morioka, K., Narita, Y., Tasaki, S., Toyoda, K., Ito, S., Kido, H. and Tanaka, Y.	4. 巻 69
2. 論文標題 Bacterial-induced maternal interleukin-17A pathway promotes autistic-like behaviors in mouse offspring.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Exp. Anim.	6. 最初と最後の頁 250-260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） org/10.1538/expanim.19-0156	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tasaki, S., Cho, T., Nagao, J., Ikezaki, S., Narita, Y., Arita-Morioka, K., Yasumatsu, K., Toyoda, K., Kojima, H. and Tanaka, Y.	4. 巻 18
2. 論文標題 Th17 cells differentiated with mycelial membranes of <i>Candida albicans</i> prevent oral candidiasis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 FEMS Yeast Res.	6. 最初と最後の頁 foy018
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/femsyr/foy018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Arita-Morioka, K., Yamanaka, K., Mizunoe, Y., Tanaka, Y., Ogura, T. and Sugimoto, S.	4. 巻 8
2. 論文標題 Inhibitory effects of Myricetin derivatives on curli-dependent biofilm formation in <i>Escherichia coli</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 8432
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-26748-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安松香奈江, 城戸寛史, 田中芳彦
2. 発表標題 胎児脳システム発達に関わる母体免疫活性化の重要性について
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安松香奈江, 永尾潤一, 成田由香, 有田(森岡)健一, 長環, 城戸寛史, 田中芳彦
2. 発表標題 母体の病原性細菌感染が仔の行動異常に与える影響について
3. 学会等名 第61回歯科基礎医学会学術大会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安松香奈江, 田中芳彦, 城戸寛史
2. 発表標題 細菌感染による母体環境変化が引き起こす仔マウスの行動異常について
3. 学会等名 第49回日本口腔インプラント学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka, Y.
2. 発表標題 A novel alternatively spliced SWAP-70-like adapter of T cells in differentiated Th2 cells.
3. 学会等名 The 91th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society. (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasumatsu, K., Nagao, J., Narita, Y., Arita-Morioka, K, Ikezaki, S., Tasaki, S., Toyoda, K., Cho, T., Kido, H., Tanaka Y.
2. 発表標題 The influence of maternal inflammation by bacterial infection on fetal brain development.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology.
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安松香奈江, 永尾潤一, 成田由香, 有田(森岡)健一, 池崎晶二郎, 長環, 城戸寛史, 田中芳彦.
2. 発表標題 母体の細菌感染が胎児脳システム発達に及ぼす影響
3. 学会等名 第45回福岡歯科大学学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安松香奈江, 城戸寛史, 田中芳彦.
2. 発表標題 細菌感染による母体免疫活性化と胎児脳システム発達に関連性
3. 学会等名 第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 安松香奈江, 永尾潤一, 豊田馨太, 成田由香, 有田(森岡)健一, 池崎晶二郎, 田崎園子, 長環, 城戸寛史, 田中芳彦.
2. 発表標題 細菌感染がもたらす母体免疫活性化が胎児脳システムへ与える影響について
3. 学会等名 第60回歯科基礎医学会学術大会・総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究者HP https://www.fdcnet.ac.jp/col/info/teacher/teacher_info_tanaka 所属研究機関研究分野HP https://www.fdcnet.ac.jp/col/departement_graduate_school/div_info/div_info_kinou#sec02</p>
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永尾 潤一 (Nagao Jun-ichi) (30509047)	福岡歯科大学・口腔歯学部・講師 (37114)	
研究分担者	成田 由香 (Narita Yuka) (50758050)	福岡歯科大学・口腔歯学部・助教 (37114)	
研究分担者	長 環 (Cho Tamaki) (90131870)	福岡歯科大学・口腔歯学部・教授 (37114)	退職のため削除：2019年9月13日
研究分担者	有田 健一 (Arita Ken-ichi) (90780205)	福岡歯科大学・口腔歯学部・助教 (37114)	