

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K17197

研究課題名（和文）歯周病原菌による分泌小胞を介した新たな細胞障害メカニズムの解明

研究課題名（英文）The effect of oral bacteria-released extracellular vesicles on periodontal cells

研究代表者

味野 範子（塩津範子）（Mino(Shiotsu), Noriko）

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：90771452

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、歯周病原菌が歯周組織を破壊するメカニズムについて、細胞外に分泌される小胞に着目して解析した。その結果、歯周病原菌が放出する『細胞外分泌小胞』には歯周病原菌固有の強力な病原因子が含まれており、唾液や血液を介して上皮細胞以外の様々な歯周組織の細胞にも作用し、障害性を示すことが分かった。歯周病原菌の種類や活動性は『細胞外分泌小胞』の内容物や細胞障害性と関連が深いと考えられ、口腔の病的変化・衛生状態を計る指標として重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周病原菌の『細胞外小胞』は、主に微生物間の情報伝達や歯垢形成における役割について解析がなされてきた。そのため、様々な歯周組織の細胞の分化や機能に及ぼす影響についての幅広い研究は皆無に等しかった。本研究では、歯周病原菌の『細胞外小胞』が菌本体に匹敵する病原性をもつことを明らかにし、宿主細胞に与える影響について解析した。この成果は、歯周病進行における歯周病原菌の『細胞外小胞』の役割を解明した点で学術的意義や社会的意義が高い。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the mechanism of how periodontal pathogens destroy periodontal tissue, focusing on extracellular vesicles. As a result, the extracellular vesicles released by periodontal pathogens contain powerful virulence factors specific to periodontal pathogens. Also, the extracellular vesicles can be transferred to various periodontal tissue cells via saliva and blood. The extracellular vesicles exhibited cytotoxic properties on periodontal cells including osteoblasts and fibroblasts. The type and activity of periodontal pathogens are considered to be closely related to the contents and cytotoxicity of the extracellular vesicles and are important indicators for measuring pathological changes and sanitary conditions of the oral cavity.

研究分野：組織学

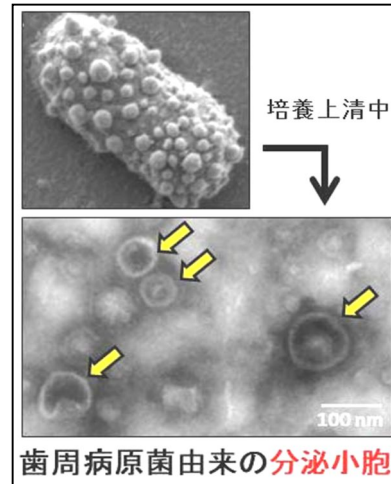
キーワード：細胞外分泌小胞 歯周病原菌

1. 研究開始当初の背景

歯周病原菌が歯周組織の細胞に障害を及ぼす要因として、菌の膜成分であるリポ多糖 (LPS) および菌が感染した免疫担当細胞に由来するサイトカインが広く知られている。一方で、歯周病原菌自体の移行がないにも関わらず、菌固有の因子が遠隔臓器に到達し、障害性を示すなど、これまでの理論では説明できない現象も数多く報告されている。

私は、歯周病原菌が『細胞外分泌小胞』を恒常的に分泌し、生体側の細胞に様々な影響を及ぼすことを見出した。この分泌物は、右図に示すように、細菌の外膜に由来する小胞で、内部には菌固有の病原因子を豊富に含んでいる。

私は、歯周病原菌と宿主の細胞との未知のコミュニケーション機構について研究を行い、歯周病原菌が放出する『細胞外分泌小胞』が口腔や肺の上皮細胞におけるバリア機構を破壊し、細胞死を誘導することを見出した (He et al., *Arch Oral Biol*, 2020)。この『細胞外分泌小胞』には歯周病原菌固有の強力な病原因子が含まれており、唾液や血液を介して上皮細胞以外の様々な歯周組織の細胞にも作用する。『細胞外分泌小胞』の内容物や細胞障害性は、歯周病原菌の種類や活動性に依存して変化するため、口腔の病的変化・衛生状態に大きく関与するとともに、それらを反映すると考えられるが、その詳細は明らかでなかった。



2. 研究の目的

本研究の目的は、歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』による歯周組織の細胞の機能に与える影響を調べ、歯周病原菌と口腔環境の病的変化を関連づける新たな分子メカニズムを解明することであった。具体的には、

(1) 『細胞外分泌小胞』に含まれる細胞障害性因子の同定

病原性の異なる歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』の内容物を同定し、歯周病原菌のタイプ・活動性に相関する因子について解析を行った。

(2) 歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』が歯周組織の細胞に与える影響を調べる。

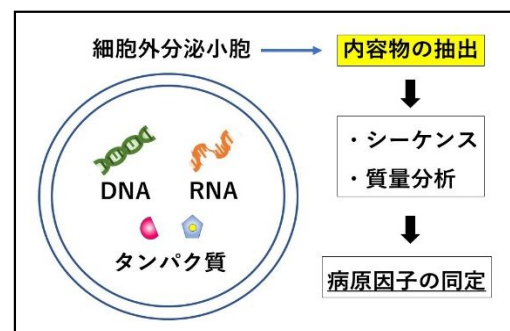
歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』がマクロファージ、骨関連細胞、上皮細胞・線維芽細胞、がん細胞、血管内皮細胞に与える影響を解析する。

3. 研究の方法

(1) 『細胞外分泌小胞』に含まれる細胞障害性因子の同定

歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』には、菌固有の DNA や RNA などの核酸やタンパク質が含まれている。これらの因子を同定し、どの因子が細胞障害性に関与するか調べる。

細胞外分泌小胞に含まれる核酸を抽出し、高速シーケンサーにより配列を読む。また、細胞外分泌小胞からタンパク質を抽出し、質量分析によりアミノ酸配列を調べ、同定した。

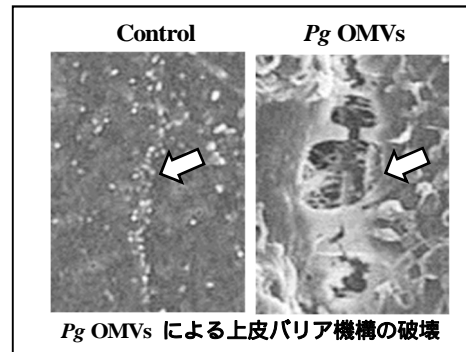


(2) 歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』による歯周組織の細胞の機能変化
細胞外分泌小胞』の炎症・骨代謝・上皮の防御機構・がんの転移と増殖・血管内皮細胞の機能に対する作用を明らかにした。

4. 研究成果

歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』の中には、菌固有の蛋白質分解酵素である gingipain や線毛の主要構成蛋白質である FimA などが含まれていた。

歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』は、骨芽細胞、線維芽細胞、肺上皮細胞、血管内皮細胞に対し、濃度依存的に細胞障害性を示した。また、血管内皮細胞の遊走性を低下させた。以上の結果より、歯周病原菌は放出する『細胞外分泌小胞』内に固有の病原因子を含ませることで、遠隔組織・細胞に到達させることで、障害を与えることが示された。今後は、他の種類の歯周病原菌の『細胞外分泌小胞』についても同様の障害性を示すか検討していきたい。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirohiko Okamura, Katsuhiko Hirota, Kaya Yoshida, Yao Weng, Yuhuan He, Noriko Shiotsu, Mika Ikegame, Yoko Uchida-Fukuhara, Airi Tanai, Jiajie Guo,	4. 巻 57
2. 論文標題 Outer membrane vesicles of Porphyromonas gingivalis: Novel communication tool and strategy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Dental Science Review	6. 最初と最後の頁 138-146
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------