

令和 5 年 5 月 31 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：21K17211

研究課題名（和文）歯周病菌由来「細胞外小胞」がつなぐ母体－胎児新規コミュニケーションの解明

研究課題名（英文）Maternal-fetal new communication via 'outer membrane vesicles' derived from periodontal pathogens.

研究代表者

福原 瑤子（内田瑤子）（Uchida-Fukuhara, Yoko）

岡山大学・医歯薬学域・助教

研究者番号：60779742

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）：胎生期において、胎児は「胎盤」を介して母体側と栄養や代謝物、ガスの交換を行っている。近年、母体の口腔環境が胎児の成長発育と疾患発症に関与することが分かってきたが、その詳細なメカニズムは不明である。本研究は、歯周病菌由来の「細胞外小胞」が胎盤組織に与える影響に着目した。結果として、歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』は1) 胎盤および胎児に移行し、2) 胎盤組織形成を抑制することが明らかとなった。今後は母体由来の歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』が出生後の子の成長機能へ与える影響を明らかにしたい。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、母体の口腔細菌叢と胎児の成長発育とを関連付ける因子として、歯周病菌由来の「細胞外小胞」が大きな役割を果たしていることが明らかとなった。母体胎盤の血管形成のみならず、胎児体格形成にも影響を与えることから、口腔細菌叢を中心とした口腔環境が母体だけではなく、生後の子の成長発育へ影響を与える可能性が十分に考えられる。本研究結果は歯科のみならず産科・小児科学的にも重要な意義を持つ。

研究成果の概要（英文）：During the embryonic period, the foetus exchanges nutrients, metabolites and gases with the maternal side via the 'placenta'. In recent years, maternal oral environment has been found to be involved in the growth and development of the foetus and the onset of disease, but the detailed mechanisms are unknown. This study focused on the effects of 'outer membrane vesicles' derived from periodontopathogenic bacteria on placental tissue. The results showed that 1) transferred to the placenta and foetus; and 2) inhibited placental tissue formation. Next, we would like to clarify the effects of the maternal-derived periodontopathogen-derived 'outer membrane vesicles' on the growth function of the offspring after birth.

研究分野：社会歯学

キーワード：骨格成長 母子口腔健康 歯周病 細胞外小胞

## 1. 研究開始当初の背景

近年、日本では低体重出生児の割合が先進国の中で軒並み高く、早急な対策が必須とされる。疫学的な研究は数多くみられるものの、基礎的な研究が立ち遅れており、その詳細な原因の究明や客観的な指標の確立には至っていない。

歯周病と低体重出生については、1996年にその関連性が報告されて以降、国内外において数多くの疫学研究がおこなわれてきた。私たちのグループは、妊婦の歯周状態と胎児の成長発育について調べた結果、歯周病を有する妊婦では、妊娠後期において胎児の成長発育が顕著に抑制されることを明らかにした (Taniguchi-Tabata et al., Sci Rep, 2020)。しかし、“母体の口腔内環境・歯周病菌がいかに胎児発育に関与するか”に関しては、その分子生物学的研究が十分になされておらず、不明な点が多い。そこで我々は母体の口腔内環境と胎児の成長発育とを関連付ける因子として、歯周病菌由来の「細胞外小胞」に着目した。歯周病菌は他の細菌と同様に、様々な環境下で「細胞外小胞」を分泌する。「細胞外小胞」の内部には核酸、タンパク質や脂質などが豊富に含まれており、新たな情報伝達因子として注目されている。胎盤には血液胎盤関門が存在し、母子間の物質移動は、脂溶性で極めて小さい分子のものに制限される。歯周病菌が分泌する「細胞外小胞」は、脂質二重膜に包まれており、直径が数十ナノメートルと非常に小さいため、胎盤を通過して胎児に到達する可能性が高いと考えた。

## 2. 研究の目的

歯周病菌由来の「細胞外小胞」の他臓器への伝播および母体の胎盤組織形成にどう関与するか、細胞・分子レベルで明らかにすることを本研究の目的とした。具体的には、歯周病菌由来の「細胞外小胞」について研究を行った。

胎盤に移行するか

胎盤組織にどのような影響を与えるか

## 3. 研究の方法

まず、歯周病原菌を感染させたマクロファージから『細胞外分泌小胞』を回収し、10週齢の妊娠マウスに尾静脈から投与した (5 µg, 2回/週)。妊娠18日目で妊娠マウスに蛍光標識した『細胞外分泌小胞』を投与し、胎盤や胎児へ移行するか解析を行った。次に、歯周病原菌を感染させたマクロファージから採取した『細胞外分泌小胞』が胎盤組織や胎児へ与える影響を組織・タンパク質レベルで解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 歯周病菌由来の「細胞外小胞」は胎盤に移行するか？

妊娠18日目で妊娠マウスに蛍光標識した『細胞外分泌小胞(以下 Pg inf MQ EVs)』を投与し、生体内で蛍光物質の動態を観察できるバイオイメーキング装置 (IVIS imaging system) を用いて、胎盤への移行の有無を解析した。その結果、母体側では胎盤を含む各臓器と、胎児において、赤色蛍光が検出された。歯周病原菌は一度宿主側の細胞を隠れ蓑とし、歯周病原菌由来の『細胞外分泌小胞』は胎盤および胎児に移行・形成を阻害することが示唆された。胎児の体格を比較したところ、Control群と比較して Pg inf MQ EVs を投与されたマウスから採取した胎児は体格が小さく、形成が抑制されていることが明らかとなった。

### (2) 歯周病菌由来の「細胞外小胞」は胎盤組織にどのような影響を与えるか？

Control群・Pg inf MQ EVs群の胎盤の組織学的構造の違い HE染色で確認したところ、Pg inf MQ EVs群では血管内腔が狭かった。

両群の胎盤組織からエクソソームを回収し、質量解析を行った結果、Pg inf MQ EVs 群では血管新生に関与する因子の発現が低いことが明らかとなった。両群の胎盤からタンパク質を回収し、ウェスタンブロット法で比較したところ、同様の結果が得られた。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC 細胞) に Pg inf MQ EVs を添加し、細胞遊走能を調べたところ、Pg inf MQ EVs を添加した HUVEC 細胞は細胞遊走能が減少した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Uchida-Fukuhara, Y.; Hattori, T.; Fu, S.; Kondo, S.; Kuwahara, M.; Fukuhara, D.; Islam, M.M.; Kataoka, K.; Ekuni, D.; Kubota, S.; et al.	4. 巻 10
2. 論文標題 Maternal Gut Microbiome Decelerates Fetal Endochondral Bone Formation by Inducing Inflammatory Reaction.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microorganisms .	6. 最初と最後の頁 1000
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/microorganisms10051000.	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 Ichiro Sumita, Naoki Toyama, Daisuke Ekuni, Takayuki Maruyama, Aya Yokoi, Daiki Fukuhara, Yoko Uchida-Fukuhara, Momoko Nakahara, Manabu Morita	4. 巻 19
2. 論文標題 The Impact of Oral Health Behaviors, Health Belief Model, and Absolute Risk Aversion on the Willingness of Japanese University Students to Undergo Regular Dental Check-Ups: A Cross-Sectional Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Environ Res Public Health .	6. 最初と最後の頁 13920
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijerph192113920.	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 May Wathone Oo, Hotaka Kawai , Htoo Shwe Eain, Yamin Soe, Kiyofumi Takabatake, Sho Sanou, Qiusheng Shan, Yasunori Inada, Masae Fujii, Yoko Fukuhara, Ziyi Wang, Shintaro Sukegawa, Mitsuaki Ono, Keisuke Nakano, Hitoshi Nagatsuka	4. 巻 10
2. 論文標題 SOD3 Expression in Tumor Stroma Provides the Tumor Vessel Maturity in Oral Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 2729
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines10112729.	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 Haoze Yuan, Mika Ikegame , Yoko Fukuhara, Fumiko Takenoto, Yaqiong Yu, Jumpei Teramachi, Yao Weng , Jiajie Guo, Daisuke Yamada, Takeshi Takarada, Ying Li, Hirohiko Okamura, Bin Zhang	4. 巻 111
2. 論文標題 Vestigial-Like 3 Plays an Important Role in Osteoblast Differentiation by Regulating the Expression of Osteogenic Transcription Factors and BMP Signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Calcif Tissue Int .	6. 最初と最後の頁 331-344
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00223-022-00997-7	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 Yoshida Kayo, Yoshida Kaya, Fujiwara Natsumi, Seyama Mariko, Ono Kisho, Kawai Hotaka, Guo Jiajie, Wang Ziyi, Weng Yao, Yu Yaqiong, Uchida-Fukuhara Yoko, Ikegame Mika, Sasaki Akira, Nagatsuka Hitoshi, Kamioka Hiroshi, Okamura Hirohiko, Ozaki Kazumi	4. 巻 1867
2. 論文標題 Extracellular vesicles of <i>P. gingivalis</i> -infected macrophages induce lung injury	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease	6. 最初と最後の頁 166236 ~ 166236
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbadis.2021.166236	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 -

1. 著者名 Weng Yao, Wang Ziyi, Fukuhara Yoko, Tanai Airi, Ikegame Mika, Yamada Daisuke, Takarada Takeshi, Izawa Takashi, Hayano Satoru, Yoshida Kaya, Kamioka Hiroshi, Okamura Hirohiko	4. 巻 47
2. 論文標題 O-GlcNAcylation drives calcium signaling toward osteoblast differentiation: A bioinformatics-oriented study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BioFactors	6. 最初と最後の頁 992 ~ 1015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/biof.1774	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 該当する

1. 著者名 Okamura Hirohiko, Hirota Katsuhiko, Yoshida Kaya, Weng Yao, He Yuhan, Shiotsu Noriko, Ikegame Mika, Uchida-Fukuhara Yoko, Tanai Airi, Guo Jiajie	4. 巻 57
2. 論文標題 Outer membrane vesicles of <i>Porphyromonas gingivalis</i> : 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) 10.1016/j.jdsr.2021.07.003	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 -

1. 著者名 Ekuni Daisuke, Kato Seiya, Kawakami Shigehisa, Maruyama Takayuki, Kataoka Kota, Uchida Fukuhara Yoko, Fukuhara Daiki, Toyama Naoki, Yokoi Aya, Islam Md Monirul, Khair Subrina Binta, Kodama Naoki, Morita Manabu	4. 巻 48
2. 論文標題 Parafunctional masseter muscle activity during waking is related to periodontitis progression: A pilot prospective cohort study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Periodontology	6. 最初と最後の頁 785 ~ 794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jcpe.13432	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 Nakahara Momoko, Ekuni Daisuke, Kataoka Kota, Yokoi Aya, Uchida-Fukuhara Yoko, Fukuhara Daiki, Kobayashi Terumasa, Toyama Naoki, Saho Hikari, Islam Md Monirul, Iwasaki Yoshiaki, Morita Manabu	4. 巻 18
2. 論文標題 Living with Family Is Directly Associated with Regular Dental Checkup and Indirectly Associated with Gingival Status among Japanese University Students: A 3-Year Cohort Study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 324 ~ 324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph18010324	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10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 福原瑠子、澤藤りかい、島村繁、松村博文、石田 肇、池亀美華、岡村裕彦、蔦谷匠
2. 発表標題 歯石の古代プロテオミクス解析によるオホーツク人の口腔内環境の復元
3. 学会等名 第76回日本人類学会大会・第38回日本霊長類学会大会連合大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤愛理、福原瑠子、Heriati Sitosari、池亀美華、岡村裕彦
2. 発表標題 液-液相分離は -カテニンの細胞内局在を制御する
3. 学会等名 第128回 日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Zheng Yilin, Sitosari Heriati, Weng Yao, 味野範子, 福原瑠子, 池亀美華, 岡村裕彦
2. 発表標題 Porphyromonas gingivalis 菌によるバイオフィルム形成の至適条件の確立
3. 学会等名 分子病理研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Heriati Sitosari, Yao Weng, Yilin Zheng, Yoko Fukuhara, Mika Ikegame, Hirohiko Okamura
2. 発表標題 Different response of oral squamous cell carcinoma cell lines under OSMI-1 treatment
3. 学会等名 分子病理研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹本史子, 福原瑠子, 池亀美華, 上岡 寛, 岡村裕彦
2. 発表標題 持続的・間欠的伸展刺激受容後における骨芽細胞の形態変化の解析
3. 学会等名 第42回 日本骨形態計測学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹本史子, 福原瑠子, 池亀美華, 上岡寛, 岡村裕彦
2. 発表標題 In Vitroで骨芽細胞分化を促進する一軸的伸展刺激条件の検討
3. 学会等名 第29回硬組織再生生物学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Weng Yao, Heriati Sitosari, 福原瑠子, 池亀美華, 岡村裕彦
2. 発表標題 O-GlcNAcylation drives calcium signaling towards osteoblast differentiation
3. 学会等名 日本解剖学会第75回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Heriati Sitosari, Weng Yao, 福原瑠子, 池亀美華, 岡村裕彦
2. 発表標題 O-GlcNAcylation affects the growth and migration ability of human oral squamous carcinoma cells
3. 学会等名 日本解剖学会第75回中国・四国支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹本史子, 福原瑠子, 池亀美華, 上岡寛, 岡村裕彦
2. 発表標題 間欠的・持続的伸展刺激受容後における骨芽細胞の経時的変化
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福原瑠子, 蔦谷匠, 澤藤りかい, 島村繁, 松村博文, 石田肇, 池亀美華, 岡村裕彦
2. 発表標題 オホーツク文化人の歯石を対象とした古代プロテオミクス解析の検討
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2021年

〔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
---------	---------