

大学院口腔科学教育部研究奨励賞研究成果報告書

口腔科学教育部口腔保健学専攻 2年

口腔保健支援学分野 吉田 佳世

研究課題名 歯周病原菌感染マクロファージに起因する肺疾患発症機構の解明

1. 研究目的と成果内容

多くの先行研究から歯周病が肺炎や喘息、COPDなどの肺疾患に関連することが報告されているが、その分子学的機序は不明な点が多い。本研究では、歯周病原菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* を感染させたマクロファージが放出する Extracellular vesicles (以下, *Pg* inf EVs) が肺に到達し、肺疾患を発症・重症化させると仮説を立て、*Pg* inf EVs がマウスの肺に及ぼす影響やその機序をヒストン蛋白質に着目して *in vivo* および *in vitro* 解析を行った。マクロファージに分化させたヒト単球由来細胞 (THP-1 細胞) に *Pg* を添加し、その培養上清から EVs (*Pg* inf EVs) を抽出した。*In vivo* 解析として、*Pg* inf EVs をマウスに腹腔内投与し、その生体内動態および肺に与える短期的および長期的な影響を検討した (徳島大学動物実験委員会承認:T2020-46号)。*In vitro* 解析では、*Pg* inf EVs もしくは Histone H3.1 の添加によるヒトII型肺胞上皮細胞 (A549 細胞) への影響および NF- κ B シグナルに与える影響を解析した。

その結果、マウス腹腔内に投与した EVs は IVIS Spectrum を用いた解析により肺へ移行することが示された。また、*Pg* inf EVs 投与4時間後にはマウスの肺間質への好中球浸潤など炎症を示す病理的变化が認められた。さらに、*Pg* inf EVs を長期投与したマウスの肺では高い MPO 活性がみられるなど炎症の持続が観察された。一方、*in vitro* 解析より *Pg* inf EVs および Histone H3.1 は、A549 細胞において炎症に関与する遺伝子の発現を有意に亢進し、とくに *Pg* inf EVs は NF- κ B シグナルを活性化することが明らかとなった。これらの結果は、EVs の放出を介して歯周病が肺疾患の発症や重症化に関与する可能性を示す新たな知見であり、誤嚥リスクや生活背景に関わらず、肺炎予防や治療における専門的な口腔衛生管理が重要であることが示唆された。

2. 自己評価

現在、肺炎を誘導する機序として、例えば COPD は喫煙によるニコチンや労働環境による粉塵などの外来因子の吸入、また歯周病原菌やその産生物が唾液とともに気道や肺組織に侵入して炎症を誘導するという誤嚥性肺炎に共通した概念が提案されてきた。一方で、非喫煙者においても歯周病が重症な患者は COPD 発症リスクが約 4 倍高いという報告は、歯周病が外来因子吸入や誤嚥以外の要素で肺疾患を発症・重症化させる可能性を示している。しかしながら、現在の肺炎予防としての専門的口腔衛生管理や指導は、嚥下障害のある高齢者や障がい者といった誤嚥の危険性を有する者、もしくは喫煙や粉塵を吸入する職に就いているなどの生活背景を有する者に限局されている。また、COPD 患者の主な治療法においては禁煙指導と対症療法（気管支拡張剤や酸素吸引）であり、歯周治療や専門的口腔衛生管理は導入されていない。

本研究の結果は、誤嚥や外来因子の吸入を伴わない場合においても、歯周病局所で産生された病原性因子 *Pg inf* EVs が肺疾患を発症・重症化させる可能性を示している。この知見はまた、誤嚥リスクや生活背景に関わらない早期からの専門的口腔衛生管理の重要性を提示している。今後のさらなる研究により、現在の医療・介護分野における肺炎予防・治療の概念を変える波及効果が期待できる。

修士課程で行ってきた研究活動はそのほとんどが手技や御作法の習得・確立であり、先生方に御指導・指示を仰ぐばかりの甘えた日々であった。研究時間も研究遂行力も十分と言えない。今後の研究生活では手取り足取り御指示いただきたい甘えを慎み、自発的に研究計画を立てるなど、修士課程の延長になることのないよう研鑽を積みたい。

3. 学会発表

歯周病原菌感染マクロファージの細胞外小胞が肺に線維化を誘導する可能性の検証
第 63 回秋季日本歯周病学会学術大会，Web 開催，2020 年 10 月 26～11 月 30 日，ポスター

吉田佳世，吉田賀弥，瀬山真莉子，尾崎和美

4. 論文

Kaya Yoshida, Kayo Yoshida, Mariko Seyama, Kazumi Ozaki, Okamura H. :
Extracellular Vesicles in Periodontal Medicine: The Candidates Linking Oral
Health to General Health., Journal of Oral Health and Biosciences, 33(1) :
15-23, 2020.