

## 論文審査の結果の要旨

氏名：小川 泰宏

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Effect of periodontopathic bacteria *Fusobacterium nucleatum* in oral and intestinal inflammation  
(歯周病原細菌 *Fusobacterium nucleatum* による口腔および腸管における炎症への影響)

審査委員：(主査) 教授 平塚 浩一  
(副査) 教授 岡田 裕之  
教授 落合 智子  
教授 小宮 正道

歯周病は、糖尿病、動脈硬化、早産・低体重児出産など様々な全身性疾患との関連性が指摘されている感染性の慢性炎症性疾患である。歯周病は多因子性疾患であり、基礎疾患、遺伝的背景、歯周病原体、免疫機構が重要な因子であることが指摘されている。感染による炎症部位において、歯肉線維芽細胞や歯肉上皮細胞などにより産生される、IL-1 や IL-6 などの炎症性サイトカインは、初期においては感染性微生物の除去に有効に働くが、過剰または持続的なサイトカイン産生は、歯肉付着の喪失および receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANK) / osteoprotegerin (RANKL) シグナル伝達経路によって引き起こされる歯槽骨吸収を伴う歯周組織破壊を導く。マクロファージは、IL-1 $\beta$  や TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの重要な供給源であり、病原性の調節不全では、これらのサイトカインは宿主組織の破壊に寄与する。歯肉溝浸出液および唾液中のサイトカインレベルは、健康な人より歯周炎患者の方が高く、歯周治療後に減少することが報告されている。従って、歯周病原体によって誘導される免疫細胞シグナル伝達のメカニズムを理解することは、歯周病の予防と治療に有効な情報を提供できる。

口腔と下部消化管は別々の領域であるが、どちらも特有の微生物叢が高度に確立されている。しかし、歯周炎など口腔微生物の構成異常 (dysbiosis) による状況下においては、嚥下された *Fusobacterium nucleatum* や *Porphyromonas gingivalis* などの歯周病原性細菌が、結腸で腸内細菌叢の組成を変化させ、腸内微生物の dysbiosis を引き起こす可能性がある。この腸管での dysbiosis は、異常な免疫および炎症反応を促進し、結腸直腸癌 (CRC) などの腫瘍形成をもたらす。

*F. nucleatum* は、口腔および下部消化管に生息するグラム陰性嫌気性桿菌であり、歯周病を含む様々な口腔感染症を引き起こすばかりでなく、CRC や炎症性腸疾患 (IBD) などの消化器疾患を引き起こすことが報告されている。口腔疾患では、*F. nucleatum* は疾患の重症度、炎症の進行速度、ポケットの深さとともに増加し、*in vitro* で歯肉上皮細胞およびマクロファージから IL-1 や IL-6 などの炎症性サイトカインを産生することが報告されている。しかし、*F. nucleatum* による炎症と歯周病の病理を結びつける点においては不明が多い。そこで、著者は、マウスの骨吸収と歯周病における経口 *F. nucleatum* 感染の影響を解析し、本菌の経口感染が小腸および大腸の免疫担当細胞および腸組織の炎症状態に及ぼす影響を検討した。

実験 1 : *F. nucleatum* の骨吸収および歯周組織における炎症反応の解析

1. *F. nucleatum* を接種したグループでは、歯肉粘膜下で炎症細胞の浸潤が観察され、歯槽骨の顕著な水平方向の骨吸収が観察された。
2. リアルタイム PCR 分析により、pro-IL-18 の発現と RANKL / OPG 比が歯肉組織で増加することが明らかとなった。
3. フローサイトメトリー分析により、CD4<sup>+</sup> RANKL<sup>+</sup> 細胞が歯肉炎症病変で徐々に増加することが確認された。これらの結果は、*F. nucleatum* の経口接種が歯肉組織の炎症を引き起こし、CD4<sup>+</sup> RANKL<sup>+</sup> 細

胞を介して破骨細胞を活性化し、歯槽骨吸収をもたらす可能性を示唆している。

#### 実験2： *F. nucleatum* の腸管免疫細胞動態の解析

1. *F. nucleatum* の最終経口投与後1日目に、IFN- $\gamma$ 、IL-17、およびIL-10を産生するCD4<sup>+</sup>T細胞、および転写因子Foxp3を含むT細胞は、大腸粘膜固有層 (LiLP) で有意に増加し、特にIFN- $\gamma$  およびIL-17産生CD4<sup>+</sup>T細胞およびFoxp3<sup>+</sup>T細胞は30日目でも増加する傾向にあった。
2. 小腸粘膜固有層 (SiLP) では、1日目にIFN- $\gamma$  およびIL-17産生CD4<sup>+</sup>T細胞のわずかな増加が観察された。一方、IFN- $\gamma$  およびIL-10産生CD4<sup>+</sup>T細胞は30日目に有意に増加していた。
3. 組織学的分析により、LiLPにおけるリンパ濾胞の継続的な拡大が示された。これらの結果は、*F. nucleatum* の経口感染が、小腸および大腸の下部消化管粘膜の恒常性の維持に関与するエフェクターT細胞の動態に影響を及ぼすことを示唆している。特に、エフェクターT細胞は小腸ではなく大腸で活性化され、それにより腸粘膜免疫系のバランスを乱すことが示唆された。

以上の結果から、*F. nucleatum* の経口投与はインフラマソームの活性化を介して歯周炎を引き起こし、CD4<sup>+</sup>RANKL<sup>+</sup>T細胞の増加を介して破骨細胞を活性化し、歯槽骨吸収をもたらすことが示唆された。また、下部消化管、特に大腸の炎症性細胞の増加を促進し、炎症を拡大・持続させることが示され、IBDや結腸癌発症の一因となる可能性が示唆された。

本論文は、口腔内細菌である *F. nucleatum* による下部消化管疾患の発症機序の解明に貢献するものであり、今後一層の発展が望めるものである。

よって本論文は、博士（歯学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和2年2月20日