

## 論文審査の結果の要旨

氏名：戸田 みゆき

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：A study on the mechanism of periodontitis and colitis using a mouse model of *Fusobacterium nucleatum*-induced periodontitis  
(*Fusobacterium nucleatum* 誘導歯周炎モデルマウスを用いた歯周炎および大腸炎の発症機序に関する研究)

審査委員：(主査) 教授 泉福 英信

(副査) 教授 岡田 裕之

教授 平塚 浩一

歯周組織の炎症部位における免疫反応は細菌排除に有益であるが、過剰または持続的な感染は歯周組織の破壊に繋がる。炎症応答に寄与するマクロファージなどから産生される IL-1 $\beta$  や IL-18 等の炎症性サイトカインは、組織破壊の進行に寄与する。従って、歯周炎を効果的に予防・治療するためには、歯周病原菌による免疫細胞のシグナル伝達のメカニズムを理解することが不可欠である。

腸管粘膜免疫系は、腸内細菌と共に侵入した病原性微生物の排除に寄与しているが、*Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) や *Porphyromonas gingivalis* 等の歯周病原菌は嚥下などにより腸管内に流入し、腸内細菌叢の組成を変化させる可能性がある。腸内細菌叢の構成異常 (Dysbiosis) により、病原体関連分子パターンや損傷関連分子パターンに対して激しい反応を示し、炎症性サイトカインを大量に分泌して炎症を引き起こす。Dysbiosis が炎症性腸疾患 (Inflammatory Bowel Disease : IBD) の病因に、極めて重要な役割を担っていることが示唆されている。

*F. nucleatum* は嫌気性グラム陰性桿菌の口腔内常在菌であり、歯周炎だけでなく、異常妊娠や関節リウマチなど様々な全身疾患に関与している。近年、*F. nucleatum* が腸管に侵入して腸内細菌叢の異常を引き起こし、腸内環境を悪化させることで IBD や大腸がんを引き起こすことが報告されている。*F. nucleatum* の経口接種により骨吸収および歯肉の炎症性サイトカインの遺伝子発現が上昇し、腸管でエフェクター T 細胞応答の破綻を誘発することが報告されている。しかし、*F. nucleatum* の経口接種による歯周炎の発症機序および大腸の自然免疫系への影響は不明である。

本研究は、*F. nucleatum* による歯周炎モデルマウスを作製すると共に歯周炎の発症機序を解明し、本菌の経口接種が大腸の自然免疫系に及ぼす影響を検討した。

研究 1 : *F. nucleatum* による骨吸収および炎症性サイトカイン発現の機序の解析

1. 最終口腔内接種 30 日後、破骨細胞を伴う顕著な歯槽骨吸収が認められた。
2. 同じく 30 日後、pro-IL-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$  および IL-17 の遺伝子およびタンパク発現が有意に増加していた。
3. *F. nucleatum* 経口接種マウスの血清を刺激させた Ca9-22 細胞は、IL-1 $\beta$  の遺伝子およびタンパク発現が有意に増加していた。
4. 最終口腔内接種 1 日後の歯肉組織および血清から、および 30 日後の血清中から、*F. nucleatum* が検出さ

れた。

これらの結果は、血液中の *F. nucleatum* が持続的な歯周炎の誘導に関与し、口腔および遠隔臓器の病態に寄与する可能性が示唆された。

研究2 : *F. nucleatum* による腸内細菌叢の変化および炎症性サイトカイン発現の機序の解析

1. 最終口腔内接種 30 日後、腸内細菌叢中の *Clostridium* 属の割合および IgA 産生量が有意に減少した。
2. 同じく 30 日後、粘膜固有層にマクロファージの局在が観察され、M1 型マクロファージの割合が有意であった。
3. 大腸組織の pro-IL-1 $\beta$ , pro-IL-18, IL-1 $\beta$  および IL-18 の遺伝子およびタンパク発現が有意に増加した。
4. 大腸組織の NLRP3 及び GSDMD の遺伝子発現が有意に増加した。
5. Caspase-1 は遺伝子およびタンパク発現において 30 日後まで増加傾向を示したが、Caspase-11 はタンパク発現において 30 日後まで有意に増加し続けた。
6. 最終口腔内接種 1 日後の糞便および血清から、30 日後の大腸組織および血清から、*F. nucleatum* が検出された。

これらの結果は、*F. nucleatum* の経口接種により、Caspase-11 経路を介して大腸の炎症誘導が起こる可能性が示唆された。

研究1 および2 をまとめると、*F. nucleatum* 誘導歯周炎モデルマウスにおいて、*F. nucleatum* は口腔だけでなく、血液を介して大腸にも波及し、特に Caspase-11 を活性化することで大腸の炎症を誘発する可能性が示唆された。

本研究は、マウスへの *F. nucleatum* 接種による歯周炎および大腸炎の発症機序を解明することで、口腔組織学・免疫学ならびに臨床歯科医学に大きく寄与し、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

5 年 2 月 22 日