

審査の結果の要旨

氏名 塚崎 雅之

本研究は、口腔粘膜における宿主細菌相互作用を明らかにするために、様々な遺伝子改変マウスに歯周炎モデルを誘導し、口腔細菌に対する免疫応答や口腔細菌叢、歯周炎に伴う骨破壊メカニズムを解析し、以下の結果を得ている。

1. 歯周炎を持続させたマウスでは、肝臓及び脾臓から口腔細菌が検出されたが、炎症性骨破壊のピークで感染歯を除去したマウスでは、遠隔臓器への口腔細菌の波及が抑制された。歯周炎を持続させたマウスの口腔粘膜では、IL-17 や IL-6 といった炎症性サイトカインの遺伝子発現が上昇していたが、感染歯を除去したマウスではそれらの遺伝子発現は低下していた。以上の結果から、炎症性骨破壊による感染歯の排除は、遠隔臓器への口腔細菌の波及と、歯周粘膜の Th17 型の炎症を終息させる役割を持つことが示唆された。
2. 歯周炎の進行に伴い、歯周粘膜に CD4 陽性 IL-17 陽性の T 細胞が、口腔細菌依存的に集積することが明らかとなった。
3. 歯周炎における Th17 細胞の働きを検討するため、*Il17a⁺ Il17f^{-/-}*マウスに歯周炎を誘導し解析したところ、*Il17a⁺ Il17f^{-/-}*マウスでは歯周炎における骨破壊が抑制される一方で、野生型と比較して口腔細菌の量が有意に増加しており、その組成も有意に変化していることが明らかとなった。以上の結果から、歯周炎組織に集積した Th17 細胞は IL-17 を産生し、骨破壊を誘導すると同時に口腔細菌を量・質的に制御することで、歯周炎における口腔細菌への生体防御に寄与していることが示唆された。
4. **Foxp3 の fate-mapping** マウスを用いた解析から、関節破壊において重要な役割を持つことが示唆されている Foxp3 陽性 T 細胞由来の Th17 細胞 (exFoxp3Th17 細胞)が、歯周炎を誘導したマウスの歯周組織及び頸部リンパ節で顕著に集積しており、歯周炎組織において Foxp3 陽性 T 細胞は exFoxp3Th17 細胞へと分化転換することが明らかとなった。
5. 歯周炎組織を構成する様々な細胞種特異的な RANKL 欠損マウスを作成

し、歯周炎における主要な RANKL 産生細胞を探索した結果、RANKL を骨芽細胞で欠損したマウスと、歯根膜線維芽細胞で欠損したマウスでは、歯周炎による骨破壊が顕著に抑制されることが明らかとなった。骨芽細胞や歯根膜線維芽細胞は IL-17 刺激により RANKL 発現が誘導されることから、Th17 細胞及び exFoxp3Th17 細胞は IL-17 の産生を介して骨芽細胞と歯根膜線維芽細胞の RANKL 発現誘導を介し、骨破壊に寄与すると考えられた。

6. 歯周炎において Foxp3 陽性 T 細胞が exFoxp3Th17 細胞へと分化転換する機序を探索し、抗 IL-6 抗体を投与した歯周炎マウスでは、exFoxp3Th17 細胞の細胞数及び割合が有意に減少しており、骨破壊も有意に抑制されることが明らかとなった。IL-6 欠損マウスでも同様に、歯周炎における骨破壊が有意に抑制された。In situ hybridization 法により歯周炎組織における IL-6 の発現部位を解析したところ、歯根膜線維芽細胞で IL-6 が高発現していることが明らかとなった。
7. *Il6ra^{fl/fl}Foxp3-Cre* マウス（炎症下でも Foxp3 陽性細胞が exFoxp3Th17 細胞へと分化転換しないマウス）を作製し解析したところ、*Il6ra^{fl/fl}Foxp3-Cre* マウスでは *Il17a^{-/-}Il17f^{-/-}* マウスと同様に、歯周炎における骨破壊が有意に抑制される一方で、口腔細菌の量が増加し組成も変化した。*Il6ra^{fl/fl}Foxp3-Cre* マウスの歯周炎組織では、IL-17A や RANKL の発現に加え、IL-17 の下流として報告されている抗菌ペプチド(*Defb1*, *Defb4*)及び好中球遊走因子(*Cxcl1*, *Cxcl2*)の発現が低下した。以上から、exFoxp3Th17 細胞は IL-17 を産生し、骨破壊を誘導することで感染源である歯の脱落を促すと同時に、口腔粘膜上皮の抗菌ペプチドや好中球遊走因子の発現を惹起し、口腔細菌を量・質的に制御することが示唆された。

以上、本論文は、関節リウマチの病態において悪玉とされてきた骨破壊性 T 細胞が、抗菌免疫の惹起と破骨細胞による骨吸収誘導を介して、口腔細菌に対する生体防御機構を司ることを明らかにした。細菌感染における骨破壊性 T 細胞の誘導メカニズムとその役割の解明は、新たな歯周炎制御法の確立や、他の炎症性骨疾患の病態理解に繋がる可能性があり、学位の授与に値するものと考えられる。