

研究題目 免疫制御遺伝子改変マウスを用いた常在微生物による感染症の

解析

研究組織

研究代表者：田中芳彦（福岡歯科大学口腔歯学部）
共同研究者：松本 満（徳島大学先端酵素学研究所）
研究分担者：永尾潤一（福岡歯科大学口腔歯学部）
研究分担者：豊永憲司（福岡歯科大学口腔歯学部）
研究分担者：岸川咲吏（福岡歯科大学口腔歯学部）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

免疫応答はさまざまな遺伝子によって制御されている。なかでも、AIRE (autoimmune regulator) 遺伝子は最も重要な遺伝子の一つであり、自己抗原遺伝子の転写を制御することで免疫寛容の成立や自己免疫疾患の発症に関わっている。自己免疫性多腺性内分泌不全症 (APECED) は AIRE 遺伝子に変異があつて常在微生物によるカンジダ症を発症するが、そのメカニズムは不明な点が多い。カンジダ症は常在微生物が原因となる感染症であり、免疫応答が重要な役割をしている。本研究では、遺伝子改変マウスを用いてカンジダ真菌によって惹起される免疫細胞の分化や生体内での動態などを解析することで、AIRE 遺伝子の機能を明らかにすることを目的とする。

[1-2]研究の方法・経過

本研究で用いる Aire/hAIRE-EGFP-FLAG KI マウス、Aire-KO-B6 マウスならびに Aire-KO-BALB/c マウスは、共同研究者 松本満博士の研究室で作出されたマウスであり、徳島大学ならびに福岡歯科大学の承認を得た後に譲渡・譲受され、福岡歯科大学で飼育・管理して本共同研究の一部を行った。

これらの遺伝子改変マウスを用いて、AIRE 遺伝子の機能を免疫学的、微生物学的な視点から個体レベルおよび細胞レベルで解析を行った。Aire/hAIRE -EGFP-FLAG KI マウスは、蛍光タンパク質 GFP が作られて細胞が可視化される。

Aire-KO-B6 マウスならびに Aire-KO-BALB/c マウスは、C57BL/6 系統ならびに BALB/c 系統の AIRE 遺伝子欠損マウスである。

野生型あるいは遺伝子改変マウスに、抗原、菌体成分や抗菌剤を尾静脈内、腹腔内あるいは腸管内に投与し、免疫応答を誘導しておく。その後、野生型あるいは遺伝子改変マウスにカンジダ真菌 *Candida albicans* を用いて、舌への口腔内投与を行った。これらの感染実験マウスは指定の感染実験室で飼育し病態をモニターした。また、マウスより単離した細胞に対してフローサイトメトリーや蛍光顕微鏡による測定、あるいは感染した舌に対して菌体培養や病理学的観察など生化学的、細胞生物学的手法を用いて、AIRE 遺伝子の機能を個体レベルならびに細胞レベルで解析した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

共同研究を行っている期間中、緊急事態宣言やまん延防止等重点措置などがたびたび発出された。そのため、新型コロナウイルス感染防止対策として、直接訪問して面談をすることを避けて、電子メールやオンライン会議等によって徳島大学ー福岡歯科大学の研究打合せを行った。

福岡歯科大学 アニマルセンター感染実験室において、Aire/hAIRE-EGFP-FLAG KI マウス、Aire-KO-B6 マウス、Aire-KO-BALB/c マウス、ならびに野生型マウスの舌にカンジダ真菌

Candida albicans を投与して口腔カンジダ症の感染モデル実験を行った。個体レベルで病態を観察したところ、AIRE 遺伝子欠損マウスの感染局所において真菌の菌体数が増加しており、クリニカルスコアも有意に高く、口腔カンジダ感染が悪化した。また、病理学的な観察では、AIRE 遺伝子欠損マウスの舌には好中球が多数浸潤していた。このようにヒトの自己免疫性多腺性内分泌不全症と同様の症状が再現されることが確認された。

個体レベルの観察に加えて、カンジダ真菌によって感作された免疫細胞サンプルが福岡歯科大学から徳島大学へ供与されて、細胞レベルの解析が行われた。また、研究代表者がカンジダ真菌 *Candida albicans* から作出した免疫抗原は、徳島大学 松本満博士に譲渡されて本研究の細胞レベルでの抗原刺激の解析に活用された。一連の細胞培養による抗原提示細胞の機能を解析する実験系によって、T 細胞の分化・誘導に AIRE 遺伝子が関与する可能性が示された。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

これまでに免疫応答を制御する AIRE に関して、松本満博士は多くのことを明らかにしてきた。ヒト AIRE 遺伝子の変異はカンジダ感染を伴う自己免疫性多腺性内分泌不全症として知られているが、カンジダ感染を伴うメカニズムについては不明な点が多い。研究代表者は、カンジダ感染の病原微生物 *Candida albicans* に関する研究を進めており、微生物学的な解析のみならず動物実験施設に設置された感染実験室にて免疫学的な感染動物実験を実施できる環境を整えている。今後も共同研究者の松本満博士と研究代表者による本共同研究が継続されることで、個体レベルおよび細胞レベルの研究成果における相乗効果が期待される。

本共同研究では、カンジダ感染に焦点をあわせて AIRE 遺伝子の機能を明らかにすることを目的に解析を進められた。Th17 細胞が関与する免疫不全症では慢性皮膚粘膜カンジダ症が起り、原因遺伝子として AIRE の他に CARD9 や STAT1 などが知られている。本研究の解析手法は、これらの遺伝子のもつ新しい機能解析に応用できる可能性がある。また、本共同研究の成果として AIRE 遺伝子のもつ新しい機能が解明されると、自己免疫性多腺性内分泌不全症のカンジダ感染における病態の制御や治療法の開発といった効果が期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

なし

[3-2] 学会発表

- 1) 豊永憲司, 永尾潤一, 岸川咲吏, 田中芳彦. 口腔内細菌脂質成分の自然免疫活性化能の解析. 第 63 回歯科基礎医学会学術大会, Web 開催, 10 月 10 日, 2021.
- 2) 永尾潤一, 根来 (安松) 香奈江, 田中芳彦. 宿主免疫応答による歯周病の病態形成機構の解明. 第 64 回秋季日本歯周病学会学術大会, 名古屋, 10 月 14 日, 2021.

[3-3] 成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今後は、感染実験の実験系を活用してサイトカイン産生、細胞遊走、増殖応答などへの影響を解析することで、AIRE 遺伝子のもつ新しい機能を解明していくことになるであろう。

本共同研究は松本満博士と徳島大学先端酵素学研究所のご協力とご支援を受けて行われたものであり、ここに厚くお礼申し上げます。