

日時：9月7日（日）10:00-10:30

会場：D会場（会議場2階 21会議室）

座長：吉田 明弘（松歯大 細菌）

一般演題（口演）微生物2（03-AM-D5～7）

03-AM-D5 「共生細菌由来細胞外小胞を基盤とした免疫寛容誘導型の経口粘膜炎治療薬の開発」

渡辺 崇広^{1・2・3}

(¹Joslin Diabetes Ctr, Sect Pathophysiol & Mol Pharmacol、²Harvard Med Sch, Dept Microbiol、³名大 医 ウイルス)

【緒言】扁平苔癬やがん関連粘膜炎といった炎症性口腔粘膜疾患は、歯科領域における未解決課題である。治療戦略はステロイドや抗TNF製剤といった生物学的製剤に限られ、長期使用による副作用の懸念がある。本研究では、共生細菌の免疫寛容誘導能に着目し、共生細菌由来の細胞外小胞（extracellular vesicles: EV）を経口投与可能な粘膜炎治療薬としての有効性を評価した。

【方法】マウス最小構成菌群であるAltered Schaedler Flora 8菌株の培養上清をマウス骨髄由来樹状細胞に添加し、サイトカイン動態および制御性T細胞の誘導能を評価した。サイズ排除クロマトグラフィーにより免疫寛容性を示す画分を同定した。免疫寛容を誘導する特定菌株についてトランスポゾン変異体ライブラリ

を、宿主側にはCRISPR/Cas9ライブラリを構築し、分子経路を網羅的に探索した。さらに、DSS誘導性粘膜炎マウスモデルにおいてEVを経口投与し、炎症スコアを評価した。

【結果】*Parabacteroides goldsteinii*培養上清から分離した細胞外小分画は、免疫抑制性サイトカインの産生を促進した。網羅的な分子経路の解析により自然免疫応答を中心とした多面的な免疫制御機構の関与が明らかとなった。DSS誘導性粘膜炎モデルにおいては、EV経口投与群において炎症スコアの有意な改善が認められた。

【結論】共生細菌由来EVは、新たな免疫寛容誘導型の経口粘膜炎治療薬としての可能性を示した。

03-AM-D6 「三次元肺組織モデルを用いた肺炎球菌感染が引き起こす上皮バリア傷害の解析」

赤松 由佳子¹、住友 倫子²、高原 悠樹³、広瀬 雄二郎⁴、山口 雅也⁵、中田 匡宣⁶、秋山 茂久¹、明石 満⁷、川端 重忠^{4・8}

(¹阪大 歯病障害歯、²徳大 院医歯薬 口腔微生物、³阪大 院歯 クラウンブリッジ、⁴阪大 院歯 口腔細菌、⁵医薬健栄研・細菌情報、⁶鹿大 院医歯 口腔微生物、⁷阪大、⁸阪大 感染症総合教育研究拠点)

肺は病原微生物の侵入に対する生体防御の要となる。病原微生物とヒト肺組織の相互作用に関する解析は、肺炎病態を理解するうえで重要である。我々はこれまでに、細胞外マトリックス成分であるフィブロンクチンとゼラチンを用いる細胞コート法により、ヒト正常肺線維芽細胞とヒト細気管支上皮細胞（Calu-3）から構成される三次元肺組織モデルを構築した。本研究では、当該モデルに肺炎患者から分離された肺炎球菌D39株（血清型2）を頂端部位から感染させ、HE染色、TUNEL染色、および蛍光免疫染色（E-カドヘリンと肺炎球菌の莢膜）により、感染による細気管支上皮バリアの傷害を評価した。HE染色像では、肺炎球菌の感染

による形態学的な組織構造の破綻は認められなかった。一方で、非感染時と比較して、感染によるTUNEL陽性細胞の有意な増加が認められた。また、蛍光免疫染色像の観察により、非感染時と比較して、感染によるE-カドヘリンの染色性低下が認められた。さらに、蛍光免疫染色像を用いて作製した三次元立体構築像では、感染時に菌体のE-カドヘリン発現部位への局在と線維芽細胞層への侵入が認められた。以上の結果から、肺炎球菌の感染により細気管支上皮バリアが傷害され、菌体が細胞間隙部位から組織深部へ侵入することが示唆された。

03-AM-D7 「壊死性筋膜炎発症メカニズム解明を目的とした非貫通性外傷モデルの確立」

大野 誠之^{1,2}、広瀬 雄二郎¹、川端 重忠^{1,3}(¹ 阪大 院歯 微生物、² 阪大 院歯 バイオインフォ、³ 阪大 CiDER)

化膿レンサ球菌は、筋肉組織の急速な壊死融解を特徴とする壊死性筋膜炎を惹き起こす。急速な進行のため四肢切断が必要な場合もあり、詳細な発症機序の解明が求められている。従来、マウス後肢へ細菌を筋肉内注射する壊死性筋膜炎モデルが研究に採用されてきた。しかし、壊死性筋膜炎の臨床症例の約半数では皮膚の貫通性外傷に代表される明らかな感染経路が存在しない。一方、皮下の非貫通性外傷が壊死性筋膜炎の発症と関連するとの報告がある。そこで、壊死性筋膜炎の臨床経過を模倣する、非貫通性外傷モデルの開発を行った。

本研究では、分銅を落下させ、先端径5 mmの物体でマウス大腿二頭筋部に衝撃を与えるシリンダー様装置を作製した。受傷したマウスでは、皮膚の潰瘍を認め

ず、皮下および筋肉組織でのみ出血を来していた。

続いて、非貫通性外傷を片側大腿二頭筋に作製し、2日後に咽頭炎由来化膿レンサ球菌臨床分離株を尾静脈より投与したのち、感染1日後の両側大腿二頭筋における菌数を比較した。その結果、同一個体内において受傷側筋組織では健側に比べ有意に高い菌数が検出された。また、受傷側では病理組織学的に筋肉組織の壊死融解を認めた。

臨床経過を模倣した新規壊死性筋膜炎マウスモデルは、多臓器にわたる複雑な病態の解明に寄与する可能性がある。さらに、非貫通性外傷の存在する局所では、細菌が血行性に集積し、壊死性筋膜炎発症のリスクとなることが証明された。