

女性研究者支援 研究助成 2018 – 感染症領域 –
研究成果報告書（公表用） <概要>

所 属	東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 循環制御内科学
氏 名	渡辺由佳
研究テーマ	歯周病原細菌感染がオートファジー制御異常を引き起こすメカニズムと、心筋梗塞の病態に与える影響の解明

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。（図表、写真などの添付を含む）

【研究背景・目的】

口腔内細菌によって引き起こされる慢性炎症性疾患である歯周病は、様々な全身疾患に関与していることが示唆されている。しかし、その機序については未だ不明な点が多い。近年、細胞の新陳代謝を担う細胞内分解機構であるオートファジーの制御不全が、様々なヒトの疾患の原因となっていることや、歯周病原細菌はオートファジーを回避するシステムを有することが明らかとなってきた。かかる背景を踏まえ、歯周病原細菌の感染がオートファジー制御系に影響を及ぼし、その結果、他の全身疾患へ影響を与えているのではないかと着想した。そして歯周病原細菌感染によるオートファジー制御異常を引き起こすメカニズムを解明し、さらにオートファジー制御異常が心筋梗塞の病態に与える影響を解明することを目的とした研究を行うこととした。

【研究方法・成果】

- ① 心筋細胞内における歯周病原細菌の局在の検討
細胞内 pH 測定試薬でラベルした歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) を培養心筋細胞に植菌し、蛍光顕微鏡で *P.g.* の局在を観察した。その結果、*P.g.* は心筋細胞内に侵入していることが確認された。
- ② 歯周病原細菌の感染による心筋細胞のviabilityの検討
H9C2細胞に *P.g.* を感染させ、細胞生存アッセイにより、歯周病原細菌が心筋細胞の生存性に与える影響を検証した。その結果、*P.g.* が感染したH9C2細胞では心筋細胞のダメージが顕著であることが明らかとなった。
- ③ 歯周病原細菌感染によるオートファジー抑制の検討
mRFP-GFP-LC3アデノウイルスを導入した培養心筋細胞に、*P.g.* を感染させた。そして共焦点顕微鏡でオートファゴソームおよびリソソームを検出・定量し、オートファジー抑制を評価した。その結果、*P.g.* を感染させた培養心筋細胞ではオートファゴソームとリソソームの融合が阻害されていることが分かった。
- ④ 歯周病原細菌感染によるオートファジー抑制の分子メカニズムの解明
オートファゴソームとリソソームの融合関連タンパクのFlag-taggedリコンビナントタンパクを作成し、*P.g.* と反応させたところ、融合関連タンパクが切断・不活性化されることが分かった。
- ⑤ 歯周病原細菌感染がオートファジー抑制を介して心筋梗塞の病態へ与える影響の検討
野生型マウスにカルボキシメチルセルロース (CMC) に懸濁した *P.g.*、あるいは対照群としてCMCのみを経口投与したのち、心筋梗塞モデルを作成した。生存期間および死因を解析し、心筋梗塞誘導から28日後に血圧・心拍数の測定および心エコー検査による心機能評価を行った後、心臓を摘出して病理・生化学的検討を行った。*P.g.* 投与群では抗 *P.g.* 血清IgG抗体価が有意に上昇していることを確認した。血圧・心拍数・心筋梗塞サイズに群間差は認められなかったが、*P.g.* 投与群における死亡率が有意に高く、その死因は心破裂であることが明らかとなった。

【考察】

今回の研究により歯周病原細菌 *P.g.* がオートファジー制御不全を惹起し、心筋梗塞の病態を悪化させ、心破裂を惹起することが明らかとなった。本結果は、*P.g.* 感染によるオートファジー制御不全を回避させることが歯周病を基礎疾患として有する心筋梗塞患者の病状悪化を防ぐことに繋がることを示唆しているものと考えられる。

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 国内外を問わない。 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2020年7月	第84回日本循環器学会学術集会. Yuka Shiheido-Watanabe, Yasuhiro Maejima, Natusko Tamura, Shun Nakagama, Tetsuo Sasano. "Invasion of a periodontal pathogen, <i>Porphyromonas gingivalis</i> , in myocardium causes dysregulation of autophagic machinery through abrogating function of VAMP8." 英語口演 (Featured Research Session). 査読有り
2	2020年7月	第84回日本循環器学会学術集会. Natsuko Tamura, Yasuhiro Maejima, Yuka Watanabe, Shun Nakagama, Mitsuaki Isobe, Tetsuo Sasano. "MLX Mutation is Associated with Aggravation of Periaortic Brown Adipose Tissue Inflammation-mediated Large Vessel Vasculitis in Mice." 英語口演 (Featured Research Session). 査読有り
3	2019年9月	BCVR 第3回日本循環器学会基礎研究フォーラム. Yuka Shiheido-Watanabe, Yasuhiro Maejima, Natusko Tamura, Shun Nakagama, Tetsuo Sasano. " <i>Porphyromonas gingivalis</i> , a periodontal pathogen, dysregulates autophagy by abrogating autophagosome-lysosome fusion in cardiomyocytes." 英語ポスター. 査読有り
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2021年3月	第85回日本循環器学会