

**歯周病菌の出す組織破壊酵素が脳内ミクログリア活性化の引き金に
～アルツハイマー病を悪化させるジンジバリス菌の病原因子を同定～**

九州大学大学院歯学研究院の武 洲准教授ならびに中西 博教授らの研究グループは、歯周病原菌であるジンジバリス (*Pg*) 菌 (※1) の出す歯周組織破壊酵素ジンジパイン (※2) が、ミクログリア (※3) の移動ならびに炎症反応を引き起こすことを突き止めました。

歯周病がアルツハイマー病患者の認知機能を低下することが明らかになりましたが、その詳細なメカニズムは不明です。最近、研究グループは *Pg* 菌の主な病原因子であるリポ多糖 (※4) によるミクログリアの Toll 様受容体 (※5) 活性化がリソソーム酵素カテプシン B 依存的に慢性的な脳炎症を誘発し、中年マウスの学習・記憶低下を引き起こすことを報告しました (Brain Behav Immun 65, 350-361, 2017)。しかし、*Pg* 菌のミクログリアに対する作用の全容は未解決のままです。そこで本研究では *Pg* 菌のもう一つの主な病原因子であるジンジパインのミクログリアに対する作用を検討しました。

脳内に *Pg* 菌を微量注入するとミクログリアは注入部位周囲に移動し、この反応はジンジパイン阻害剤によりほぼ完全に抑制されました。培養系でも *Pg* 菌によりミクログリアの移動が引き起こされ、ジンジパイン阻害剤でほぼ完全に抑制されました。一方、リポ多糖はミクログリアの移動に関与しませんでした。さらに、ジンジパインはミクログリアのプロテアーゼ活性化型受容体 (PAR2) (※6) を活性化し、下流の 2 つのシグナル伝達経路を介して移動に必要な細胞骨格変化を引き起こすことが明らかになりました (参考図)。また、*Pg* 菌によるミクログリアが起因する脳炎症にはリポ多糖による Toll 様受容体の活性化と、ジンジパインによる PAR2 の活性化が関与していました。今回の研究から、*Pg* 菌から分泌されるジンジパインは感染早期におけるミクログリアの反応である移動ならびに炎症反応を引き起こすことが分かりました。このことからリポ多糖に加え、ジンジパインは歯周病によるアルツハイマー病型認知症の悪化に関与する *Pg* 菌の病原因子である可能性が示唆されました。

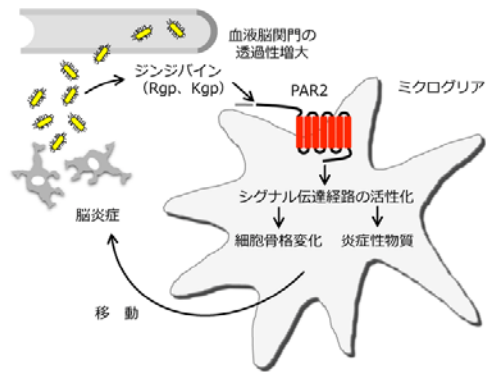
本研究成果は、2017年9月18日(月)午前10時(英国夏時間)に英国科学誌『Scientific Reports』にオンライン掲載されました。なお、用語解説は別紙を参照。



武 洲准教授

研究者からひとこと：

Pg 菌の主な病原因子であるリポ多糖はミクログリアの炎症反応には関与しますが移動には関与しません。今回、もう一つの病原因子のジンジパインがミクログリアの移動と脳炎症という一連の反応に関与することを明らかにすることができました。今後、ジンジパインが血液脳関門の透過性を高める可能性について調べる予定です。



(参考図)
Pg 菌が分泌するジンジパインによるミクログリアの PAR2 活性化を介した移動ならびに脳炎症反応

■背景

ジンジバリス (*Pg*) 菌がアルツハイマー病患者の脳内に検出され、歯周病重症度と認知症重症度が比例することも報告されました。このため歯周病はアルツハイマー型認知症の増悪因子と考えられるようになってきました。アルツハイマー病が一旦発症すると治療は極めて困難でしかも根本的な治療薬は未だ開発されていないため、発症や進行を遅らせるための歯科治療からのアプローチを確立することには大きな意義があると考えられます。しかし歯周病菌がアルツハイマー型認知症を増悪させる詳細なメカニズムについての全容は解明されていません。*Pg* 菌は歯周病の発症・進行に最も影響を及ぼす病原菌であり、菌体表面および菌体外に強力なプロテアーゼを産生します。なかでもジンジパインは本菌の産生する主要なプロテアーゼであり、ペプチド切断部位特異性の異なるアルギニン-ジンジパイン (Rgp) とリジン-ジンジパイン (Kgp) が存在します。両酵素は相互に協力しながら生体タンパク質の分解を引き起こし、宿主細胞に傷害を与え、歯周病に関連する種々の病態を生み出すと考えられています。そこでジンジパインの病理的役割に着目し、脳内ミクログリアに及ぼす作用を解析しました。

■内容

マウスの脳内に*Pg*菌を微量注入すると、ミクログリアの注入部位周囲への移動が認められました。*Pg*菌の微量注入により誘引されるミクログリアの移動はRgp阻害剤あるいはKgp阻害剤を同時に微量注入することで有意に抑制され、これらの阻害剤の併用によりほぼ完全に抑制されました。さらに、Kgp欠損株KDP129の注入では野生株と比較して移動するミクログリアの数は有意に減少していました。Boydenチェンバーを用いた解析によっても*Pg*菌によって誘発される培養ミクログリアの移動はRgpならびにKgpを介したものであることが確認できました。さらにジンジパインはミクログリアのPAR2を活性化し、2つの細胞内シグナル伝達経路 (PI3K/Akt経路ならびにMEK/ERK経路) を活性化することでミクログリアの骨格構造変化を引き起こすことを突止めました (参考図)。今回の研究結果より、*Pg*菌はリポ多糖によるToll様受容体の活性化に加え、RgpならびにKgpによるPAR2の活性化により移動ならびに炎症反応を惹起することが明らかとなりました。

■効果・今後の展開

ジンジパインは末梢血管での透過性を高めることが報告されており、ジンジパインが血液脳関門の透過性を高めることで *Pg* 菌の脳内への浸潤を引き起こしている可能性が考えられます。今後、この点も含め *Pg* 菌ならびにその病原因子の脳内浸潤メカニズムについて解析を進めたいと考えています。さらに、ジンジパイン阻害剤が歯周病のアルツハイマー病に及ぼす悪化作用を抑制する可能性についても検討したいと考えています。

<用語解説>

(※1) ジンジバリス菌 : *Porphyromonas gingivalis*、グラム陰性嫌気性細菌で、歯周病の代表的な原因細菌。

(※2) ジンジパイン : *Pg* 菌の産生する主要なプロテアーゼ (タンパク質分解酵素) で、ペプチド切断部位特異性の異なるアルギニン-ジンジパイン (Rgp) とリジン-ジンジパイン (Kgp) がある。宿主細胞を傷害し、菌の成長に必要なアミノ酸を獲得する。

(※3) ミクログリア : 脳脊髄に存在し免疫機能を担うグリア細胞の一種。

(※4) リポ多糖 (LPS) : 脂質多糖から構成されるグラム陰性菌細胞壁外膜の構成成分で、宿主のToll様受容体を介して多彩な生理活性を発現する。

(※5) Toll 様受容体 : 細菌やウイルスなどの特徴的な構造 (分子パターン) を見分ける受容体で、自免疫系の細胞が持っている。

(※6) プロテアーゼ活性化型受容体 (PAR) : 特定のプロテアーゼにより活性化される受容体で 4 つの受容体 (PAR1~PAR4) がある。

<論文名>

“Infection of microglia with *Porphyromonas gingivalis* promotes cell migration and an inflammatory response through the gingipain-mediated activation of protease-activated receptor-2 in mice” *Scientific Reports*

<本研究について>

本研究は、日本学術振興会科学研究補助金・挑戦的萌芽研究ならびに文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究「グリアアセンブリによる脳機能発現の制御と病態」(領域代表: 池田一裕 教授) による支援を受けて行われました。