

平成 19 年度学術フロンティア推進事業

歯周病による動脈硬化，糖尿病，低体重児出産の 誘発機序の解明とその制御

日本大学松戸歯学部口腔科学研究所 研究代表者 山本 正文
研究期間 平成 19 年度～平成 23 年度

《研究プロジェクトに参加する主な研究者》

| | |
|---|-------------|
| 日本大学松戸歯学部・教授 | 安孫子 宜光 |
| 大阪大学歯学部・教授 | 天野 敦雄 |
| 日本大学歯学部・教授 | 落合 邦康 |
| 大阪大学歯学部・教授 | 川端 重忠 |
| 東京大学医科学研究所・教授 | 清野 宏 |
| 長崎大学歯学部・教授 | 中山 浩次 |
| 広島大学歯学部・教授 | 西村 英紀 |
| 日本大学医学部・教授 | 早川 智 |
| アラバマ大学歯学部・教授 | 藤橋 浩太郎 |
| International Vaccine Institute (韓国)・部長 | Mi-Na Kweon |
| 日本大学医学部・教授 | 三俣 昌子 |
| 日本大学松戸歯学部・教授 | 山本 正文 |
| 日本大学松戸歯学部・准教授 | 落合 智子 |
| 日本大学松戸歯学部・准教授 | 高田 和子 |
| 東京大学医科学研究所・准教授 | 中川 一路 |
| 日本大学松戸歯学部・講師 | 大口 純人 |
| 日本大学松戸歯学部・講師 | 柴田 恭子 |
| 日本大学松戸歯学部・講師 | 平塚 浩一 |
| 日本大学松戸歯学部・助手 | 橋爪 智美 |

《研究目的》

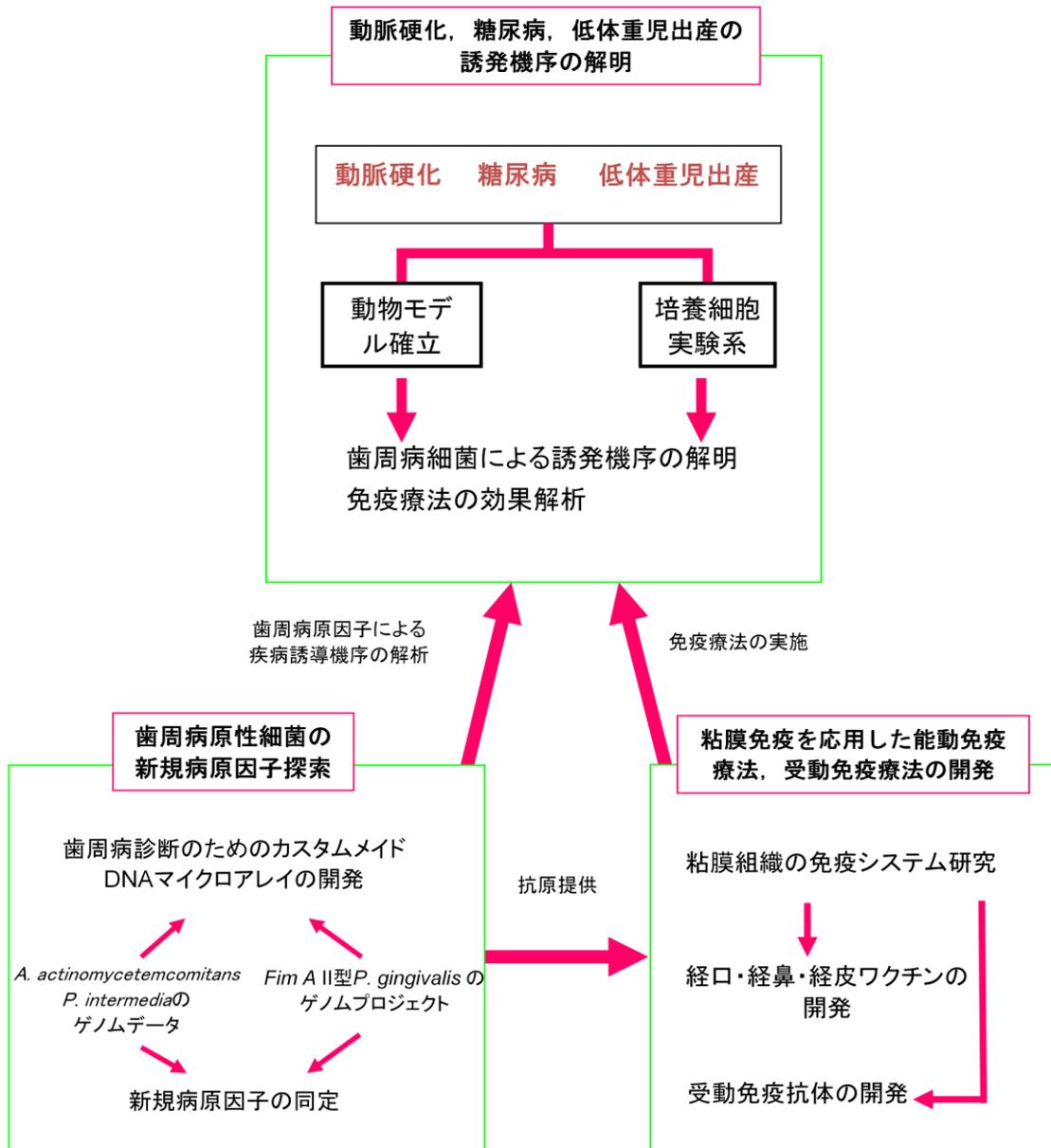
現代の高齢化社会において、生活習慣病は健康長寿の阻害要因であるだけでなく、国民医療費にも大きな影響を与える重大な疾病である。一方、歯周病は歯の喪失によって食生活や社会生活に支障をきたすだけでなく、生活習慣病、特に糖尿病、動脈硬化の誘因となることが近年の疫学研究で明らかとなってきた。さらに、妊婦の歯周病罹患により低出産体重児が生まれる割合が増大すること、低出産体重児は将来糖尿病や動脈硬化を発症しやすいことが示唆されており、歯周病が直接的、間接的に生活習慣病のリスク因子であることは明らかである。しかしながら、歯周病による上記疾患の誘発機序はほとんど解明されていない。そこで、本研究プロジェクトでは、バイオインフォマティクス研究により、宿主側、パラサイト側の両面から動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の起因あるいは誘因となる歯周病原因子の同定、歯周病による上記疾患の誘発機序を解明する。さらに、新規バイオ技術、粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法を開発することで、歯周病が起因あるいは誘因となる動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の予防・治療を目指す。

《研究組織》

本研究プロジェクトは、1～3の3つの研究班で構成される。1. 動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の誘発機序の解明班、2. 歯周病原性細菌の新規病原因子探索班は、宿主側、パラサイト側の両面から歯周病による動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の起因・誘因となる新規病原因子を同定する。また、3. 粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法の開発班は、現在までに明らかにされている病原因子を標的分子とし、歯周病が起因・誘因となる動脈硬化、糖尿病、低体重児出産に対する経口、経鼻、経皮ワクチン、口腔内への受動免疫療法の開発を行う(図1参照)。

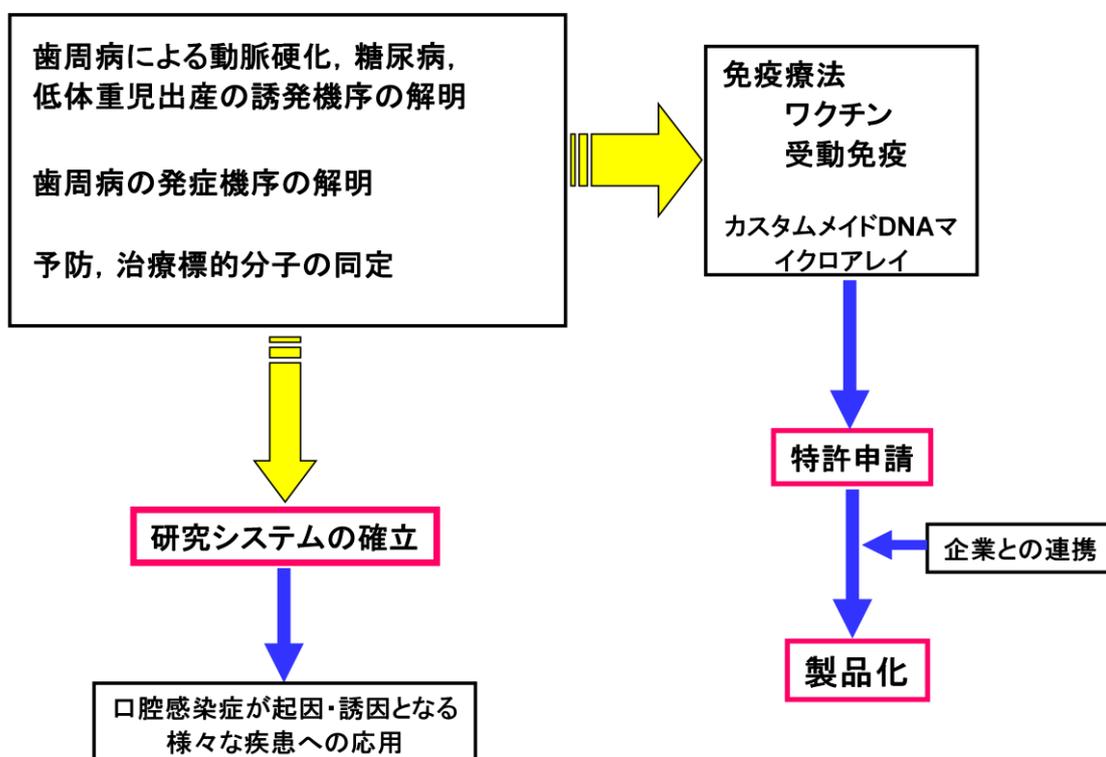
各研究班は定期的にミーティングを行うことによって協力体制を密にし、多角的な分野からのアプローチを試みることによって研究の充実を図る。特に研究過程において、1. 動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の誘発機序の解明班、2. 歯周病原性細菌の新規病原因子探索班から得られた新規病原因子の情報は、直ちに3. 粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法開発班にフィードバックし、新規標的分子に対するワクチン、受動免疫療法を開発を行う。また、3. 能動免疫、受動免疫による免疫療法の開発班で開発された予防・治療法は、1. 動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の誘発機序の解明班で確立された各種疾患の動物モデル、培養細胞実験系により、その効果を評価する体制を確立する(図1参照)。

図1 研究組織



本研究プロジェクトにより同定された新規病原因子や、それを抗原とした診断用アレイ、免疫療法は特許申請を行い、企業との連携によって、製品化を目指す。さらに、本研究プロジェクトによって確立された研究システムは歯周病や他の口腔感染症が起因・誘因となる様々な疾患の解析や治療法、予防法の開発へと応用していく(図2参照)。

図2 バイオベンチャーへの展開



《研究内容》

1. 動脈硬化, 糖尿病, 低体重児出産の誘発機序の解明

1) 動脈硬化

最近までの血管生物学, 画像診断及び臨床疫学的研究によって, 粥状動脈硬化においてはプラーク(粥腫)の形成, 進展そして破綻に至るすべての過程において炎症が中心的な役割を担うという概念が定着してきた。動脈硬化の発症・進展や合併症には, 無菌性の炎症のみならず, 微生物による慢性持続性感染が関与していると考えられ, 事実, 肺炎クラミジアや歯周病原菌などの感染が動脈硬化症の進展に関与することが, 多くの疫学や局所の血管, 血液からの高率な検出の報告で示されている。申請者らはこれまでに動脈硬化を促進する自然発症アポE欠損マウスへの *P. gingivalis* 感染により動脈硬化の進展度が促進されることを示唆した。そこで本研究では, 動脈硬化誘発モデル動物を用い, 歯周病の主要原因菌である *P. gingivalis* によって, 動脈硬化が発症する事を様々な角度から立証し, その直接効果を検討する。さらに, 感染の間接効果として *P. gingivalis* などが血液中の凝固系因子や炎症系因子, 接着因子を増やすことで動脈硬化を促進している可能性をトランスクリプトーム解析やプロテオーム解析を用いて検討する。

また, 動脈硬化病変の発症と進展には炎症反応と酸化ストレスが密接なかかわりをもちながら動脈硬化巣を形成しており, 事実, 冠動脈硬化病変の血管壁細胞で CRP 遺伝子発現が認められ, その部位には活性酸素種(ROS)の産生も確認されている。粥状動脈硬化巣(プラーク)はマクロファージを中心とした細胞から産生されるマトリックスメタロプロテナーゼ(MMP)により脆弱化し, MMPは炎症性サイトカインとROSにより活性化される。脆弱化したプラークは最終的に異常な血管収縮などを契機に破綻し, 血栓形成による管腔閉塞により急性冠症候群の発症をもたらす。このように, 動脈硬化に代表される血管リモデリングの病態は炎症と酸化ストレスに対する細胞応答反応である。申請者らは既に歯周病原菌の代謝産物である酪酸で刺激したリンパ系細胞がROSを産生し, アポトーシス誘導に深く関わることを示唆してきた。そこで, *P. gingivalis* やその代謝産物によるROS産生並びに炎症性サイトカインの増大が, 上記疾患の発症・進展に深く関与している可能性も合わせて検討する。

さらに, 増殖内皮細胞数・内皮へ接着した単球数は定常流に曝される血管非分岐部(粥状硬化発生抵抗部位)に比べ乱流領域の分岐入口部(粥状硬化好発部位)において有意に多い。これらは粥状硬化促進因子(AGE・糖負荷)によりさらに増加する。また, 定常流性ずり応力はp21-cdks-pRbを介して内皮の増殖を抑制する。そこで, ヒト培養血管内皮細胞に定常流または乱流を負荷した後単球と共培養してGene Chip/MALDI-TOF-MASS解析による網羅的なトランスクリプトーム研, プロテオーム研究を行う。

2) 糖尿病

糖尿病の発症には共通の基盤としてのインスリン抵抗性が深く関与する。脂肪細胞生物学の進歩に伴って、肥満糖尿病患者でインスリン抵抗性を惹起する分子として遊離脂肪酸、腫瘍壊死因子 (TNF- α)、レジスチン等が同定されてきた。しかしながらこれら原因分子に対する分子標的療法でインスリン抵抗性が劇的に改善し糖尿病が完全に治癒したとの報告は未だ存在しない。このことは、生体内には未だ確認されていない未知のインスリン抵抗性惹起因子が存在する可能性を強く示唆している。一方、近年歯周病に代表される軽微な慢性炎症を治療することで糖尿病患者の血中 TNF- α 濃度が減少し、インスリン抵抗性の改善を介して、グリコヘモグロビン値が好転したとの報告がなされた。しかしながらこの場合であっても治療によって低下する TNF- α 濃度は微量であり、この低下を持ってしてインスリン感受性臓器 (脂肪細胞, 肝細胞) における糖の取り込みが改善したとは考えにくい。これらの背景から、歯周病をモデルとして、新規のインスリン抵抗性惹起因子

を探索することを計画して研究を推進してきた。これまでインスリン抵抗性惹起因子の解析は肥満においてインスリン抵抗性が主に惹起される観点から、脂肪悪玉説を中心に展開されてきたが、本研究ではこれに感染が加わることでさらにインスリン抵抗性が増悪するとの仮説を立て脂肪—感染相互作用説という新たな切り口で原因分子を解析することを推進してきた。本分子の存在が明らかになれば、新規インスリン抵抗性惹起分子に対する分子標的療法の開発が期待でき、糖尿病に対する新たな対策を講じることが可能となる

3) 低体重児出産

妊娠ラットへの *A. actinomycetemcomitans* 内毒素の投与によって再現性の良い低体重出産実験モデルが準備できている。本研究では、母親ラットから胎盤、子宮、肝臓、脂肪組織等采取し mRNA およびタンパク質画分を回収して Gene Chip, MALDI-TOF-MASS を用いてトランスクリプトーム解析を行う。

妊娠中は Th2 優位、制御性 T 細胞の増加など、異物としての胎児の受容を可能とする免疫環境にあり、また著しい高エストロゲン、高プロゲステロン、高プロラクチンの内分泌環境は TLR 発現や TLR を介したシグナル伝達機構に強い影響を与える。近年、注目される子宮内・胎児プログラム仮説では、歯周病を含む胎盤機能不全で、胎児の発育が遅れると、新生児に急激な体重増加 (catch up growth) がみられ、成人した後に肥満、高血圧、II 型糖尿病、虚血性心疾患などいわゆるメタボリック症候群 X に罹患する確率が著しく高まるという。これら先天的なメタボリック症候群は DNA のメチル化を介してさらに次世代に伝わる可能性もあるため、妊婦の歯周病治療は世代を超えた患者の治療をしているという事実を念頭におく必要がある。

2. 歯周病原性細菌の新規病原因子探索

本研究では、歯周炎の主要病原菌は *P. gingivalis* と *A. actinomycetemcomitans* ゲノム計画データベースから得られる ORF 情報を基に全遺伝子発現を正確にモニターできる Affimetrix/Gene Chip を設計・作成し、種々の病態モデル実験系下での本菌の遺伝子発現モニタリングを行なう、同時にゲノムデータベースを利用してマトリックスレーザーイオン化-飛行時間型質量分析機 (MALDI-TOF-MS) を応用した網羅的なプロテオーム解析を行なうことで、歯周病発症の関連分子を同定する。さらにアフィニティーキャプチャーによる相互作用タンパク質セットをプロファイリングすることによって包括的な機能性タンパク質複合体、シグナルネットワークなどの解明を試みる。本研究の推進によって歯周病の疾患メカニズムの解明、新規歯周病予防治療の分子標的の同定、薬効の同定などに利用できるバイオインフォーマティクス情報データベースを構築する。そして蓄積される大容量のゲノム情報、ゲノミクス-プロテオミクス統合情報を網羅的にかつ有機的に利用できるような歯周病研究コンシアムの作成を実現させる。この構築データベースは、自然科学界の共通財産として捉えるべきであり、歯周病撲滅のための研究拠点として有用と考えられる。

3. 粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法

1) 粘膜ワクチンの開発

本研究では動脈硬化、糖尿病、低体重出産の起因、誘因となる歯周病の予防・治療を目的とした効果的なワクチン開発を目指す。口腔を含む粘膜組織はそれ自体が免疫組織であり、全身系免疫とは独立した独自の粘膜免疫システムが存在する。したがって、注射によるワクチン接種では粘膜面に免疫応答を誘導するのは非常に困難である。近年、開発が飛躍的に進歩している経口や経鼻などの経粘膜投与型ワクチンは粘膜面と全身系の両方に抗原特異的免疫応答を誘導することが可能である。

特に、口腔は他の粘膜組織とは異なり、唾液と歯肉溝滲出液の存在により、粘膜免疫システムと全身系免疫システムの両方に支配されている。したがって、経粘膜投与型ワクチン、特に経口、経鼻免疫ワクチンは安全性のみならず口腔内に免疫応答を誘導するための非常に有効な手段である。呼吸器、消化管の免疫システムについては、経口、経鼻ワクチンの開発、経粘膜免疫寛容によるアレルギーや自己免疫疾患の治療法の確立のために、国内外で広く解析が進められている。本研究では経口あるいは経鼻投与抗原に対する粘膜関連リンパ組織の分泌型 IgA 抗体誘導制御とその維持機構を解明する。申請者らはこれまでに消化管、特にパイエル板、孤立リンパ小節が消化管の抗原特異的 IgA 抗体応答に必須ではないこと、また、腸間膜リンパ節を含めた腸管関連リンパ組織ネットワークの存在を示唆した。そこで、本研究ではこれらの知見を土台として、

経口，経鼻投与抗原に対する分泌型 IgA 抗体応答における腸間膜リンパ節，顎下リンパ節，頸部リンパ節の役割を中心に解析を加え，経粘膜投与型歯周病ワクチンに対する粘膜関連リンパ組織の役割を明らかにすることにより，効果的な経口，経鼻ワクチンの開発に繋げていく。また，近年，その効果と安全性から注目が集まり，次世代型ワクチンとして期待されている経皮投与型ワクチンについても申請者らは研究を続けてきており，口腔内への抗原特異性抗体応答誘導への有効性を示した。本研究では経皮免疫による抗原特異的免疫応答の誘導メカニズムについて粘膜免疫との関連性を中心に解析を加え，有効性の高い歯周病の経皮ワクチンに開発に役立てていく。

投与する歯周病ワクチンに関しては，*P. gingivalis*，*A. actinomycetemcomitans* の病原因子を用いるが，現在，*P. gingivalis* の外膜タンパクを抗原とし，無毒化コレラ毒素などの種々のアジュバントを用いた経鼻，経皮ワクチンの開発が既に進行している。本研究では，さらに「歯周病原性細菌の新規病原因子探索」班が同定した動脈硬化，糖尿病，低体重出産に関わる病原因子を含めた新規標的分子を抗原として使用し，ワクチン開発を行う。本研究で開発されたワクチンは「動脈硬化，糖尿病，低体重出産の誘発機序の解明」班によって作製された各種疾患動物モデルに投与し，疾患に対する予防・治療効果について解析を加える。

2) 受動免疫抗体の開発

受動免疫療法は歯周病への適用については，これら口腔疾患の病巣が歯周組織であることから，体内への抗体の投与の必要性は低く，安全性が高いと考えられる。しかしながらヒトを対象にした医療は，常に徹底的な安全性の確認を第一に考えねばならない。歯周病の受動免疫療法実用化の社会的支持を獲得するためには，一層の安全性の保証が必要であろう。また，人類への供給を考慮したとき，抗体の量産も大事な要件である。本研究により，Fv 抗体，ヒト型抗体の avidity 活性の向上と量産に向けて，バイオテクノロジー先進技術を応用した多方面からのアプローチによって歯周病の受動免疫療法の実用化は現実のものとなる。

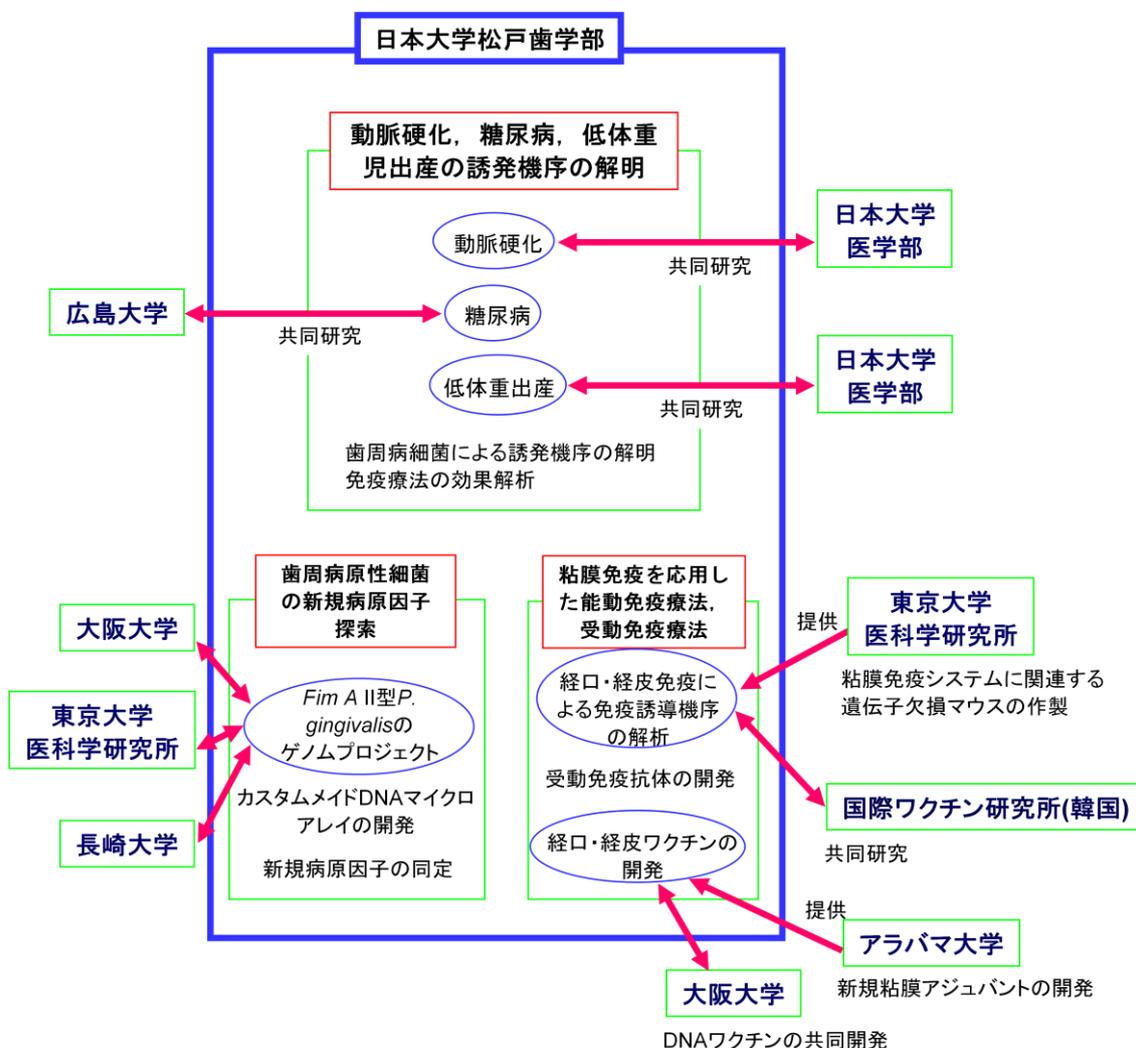
病原因子の機能ドメインや主要エピトープを利用したコンポーネントワクチンは安全性が高いといわれている。また，抗血清や精製抗体を利用して病原因子を中和する受動免疫は安全性が高く，とくに口腔への投与は危険性が極めて低いと考えられる。歯周病の重要な原因菌の歯周組織細胞への定着を制御できれば歯周病のみならず，歯周病原菌感染によって誘導される動脈硬化，糖尿病，低体重出産の誘発機序の解明を制御することが実現可能になる。本研究では，歯周病原性細菌ゲノムプロジェクトからえられるゲノム情報と比較ゲノム科学，そしてこれに引き続く病原因子の機能解析研究の成果から治療標的分子を新規に特定し，標的分子遺伝子をクローニングし，病原因子のエピトープ部位，機

能部位を特定する。そして、これら病原因子活性を中和できる安全な受動免疫抗体としてマウスモノクローナル抗体，組換え単鎖 Fv 抗体，ヒト抗体遺伝子をもつトランスジェニックマウスを応用して病原因子の機能を中和できる安全な受動免疫療法用抗体を開発する。

《共同研究の体制》

本研究プロジェクトの共同研究体制の全体図を図3に示す。以下に各研究班における共同研究体制について記す。

図3 共同研究体制



1. 動脈硬化, 糖尿病, 低体重児出産の誘発機序の解明

1) 動脈硬化

本研究グループでは, 世界で初めての自然発症 ApoE 欠損高脂血症 (SHL) マウスを用いて歯周疾患モデルマウスを作成して動脈硬化の *in vivo* 実験系の研究を推進する。共同研究者の三俣グループでは, 細胞生物学的に歯周病による動脈硬化の誘発機序を解明する。すなわち血流と病変発生の関連のメカニズムを血管内皮細胞の培養細胞実験系を利用して追求する。両実験系とも日本大学松戸歯学部口腔科学研究所に拠点整備している Affymetrix Gene Chip システム, MALDI-TOF-MASS 施設を用いたトランスクリプトーム, プロテオーム解析危機を利用して網羅的遺伝子発現, 発現タンパク質発現の大規模解析を行って動脈硬化の発症メカニズムを解明する。

2) 糖尿病

共同研究者の西村グループは, 主として歯周病の動物モデル, 脂肪細胞の細胞培養実験モデルを用いてインスリン抵抗性 II 型糖尿病の発症を TNF- α , レジスチン, 脂肪蓄積などをバイオマーカーにして検証する。また, 当該研究グループは Affymetrix Gene Chip システム, MALDI-TOF-MASS 施設を用いたトランスクリプトーム, プロテオーム解析の導入によって, これまでの知見を確認するとともに, 未知のインスリン抵抗性 II 型糖尿病の発症機序に関わる新知見を発見する。さらに, この新発見を西村グループにフィードバックして歯周病の動物モデルで再確認する。

3) 低体重児出産

研究拠点の観点からは, 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所の Affymetrix Gene Chip システム, MALDI-TOF-MASS 施設を用いたトランスクリプトーム, プロテオーム解析を推進し, 日本大学医学部では, 免疫組織学的解析と, *in situ* hybridization, 共焦点レーザー顕微鏡, ELISPOT analyzer ならびに FACS sorter による tetramer assay による解析を推進する。

垂直感染による低体重児出産のモデル動物実験では, 共同研究者の早川によって SHIV キメラウイルスによる HIV 子宮内感染モデルの確立と本学での歯周病原菌 *A. actinomucetemcomitans* LPS の妊娠ラット投与による低体重児出産モデルの比較によって起こる共通点を探索することは垂直感染による低体重児出産の発生機序の解明に重要な情報が得られると考える。未分化栄養芽細胞 RCHO-1, 人の絨毛細胞癌株 BeWo, JEG-3, JAR を用いる研究では, 両施設で分担して研究試料を作成する。

2. 歯周病原性細菌の新規病原因子探索

ゲノムプロジェクトの完成には塩基配列の解読だけでは不可能であり、東京大学医科研の中川グループのゲノムデータベース構築の支援が必要であり、また、動脈硬化、糖尿病、低体重出産を誘導するパラサイト側の新規病原因子の発見と機能解析に長崎大学の中山グループ、大阪大学の天野グループの協力が不可欠である。本研究プロジェクトの拠点として本学の安孫子が Gene Chip のデザインとカスタムメイド、MALD-TOF-MASS 解析機器を導入したプロテーム研究を推進することで共同研究体制を構成し運用することが本研究に必要である。

3. 粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法の開発

1) 粘膜ワクチンの開発

経口、経鼻、経皮免疫による免疫応答誘導機序の解析についての研究は、その分野での世界的権威である東京大学医科学研究所の清野グループと共同で行う。特に、清野グループは粘膜免疫システムに関連する各種遺伝欠損マウスの作製を進めているので、それらのマウスを用いて経口、経鼻あるいは経皮免疫による抗原特異的免疫応答の解析に応用する。また、各種ケモカインの生物学的活性や抗原特異的リンパ球のホーミングの解析に関しては既に解析技術を確立している国際ワクチン研究所（韓国）の Kweon グループの協力を得て行う。さらにヒトへの応用を目指した経口、経鼻、経皮投与型ワクチンの開発において安全かつ有効な粘膜アジュバントや細菌ベクターの開発は必須となる。米国アラバマ大学の藤橋グループは既にいくつかの粘膜アジュバントを確立しているのでそれらの供給を受けるとともに、共同で新規抗原デリバリーシステムの開発を行う。これらの研究機関と申請者らは既に長期にわたって共同研究を行い、多くの成果を挙げている。本研究においても、これらの研究機関との共同研究は重要であり、大きな成果をもたらすものと確信する。

2) 受動免疫抗体の開発

東京大学医科研の中川グループのゲノムデータベース構築の支援によって FimAII 型 *P. gingivalis* ゲノムプロジェクトが完成すれば、他の *P. gingivalis* 株との比較ゲノム科学研究によって動脈硬化、糖尿病、低体重出産を誘導するパラサイト側の新規病原因子の発見が期待できる。そして長崎大学の中山グループ、大阪大学の天野グループの協力で新規遺伝子の変異株の作成と遺伝子産物の機能解析が可能となり、研究拠点としての本学の Gene Chip によるトランスクリプトーム、MALD-TOF-MASS 解析機器を導入したプロテーム研究を推進する共同研究体制によって免疫療法の新規治療標的分子を特定できる。

《期待される研究成果》

本研究プロジェクトは歯周病が起因となる動脈硬化、糖尿病、低体重出産の発症機序ならびに病原因子を明らかにし、それらを標的とした予防、治療を行うことを目的としている。したがって、本研究プロジェクトの遂行により、単に歯周病による歯の喪失の防止のみならず、歯周病によって引き起こされる動脈硬化、糖尿病、低体重出産などの生活習慣病の予防と治療法の確立が可能となり、人類の健康増進に寄与するものであると確信する。以下にそれぞれの研究グループについて具体的に記す。

1. 動脈硬化、糖尿病、低体重児出産の誘発機序の解明

1) 動脈硬化

人口の高齢化と生活習慣の欧米化によって動脈硬化性疾患はますます重要になっている。また、動脈硬化性疾患は、地球規模で見ても感染症や癌以上に高い罹患率、発症率を示しており、動脈硬化の成因の解明と、予防・治療法の開発は焦眉の課題となっている。従って、口腔慢性感染症が一次病巣となり、二次病変として循環器障害や心疾患などに関与するという根拠が明白となれば、evidence based medicine (EBM) に確証的な情報を提供するのみならず、その病原因子を解明し、能動及び受動免疫の誘導により口腔感染症を防御する事で、二次感染症となる全身疾患を制御する事が可能となる。

2) 糖尿病

世界中でも糖尿病は患者数が激増し続けており、まさに21世紀の国民病とも言われている。WHOは、世界で1億5,000万人以上の方が糖尿病に罹患していると報告している。我が国でも健康日本21の中でも今世紀中に有効な予防・治療法を確立することの重要性が強く叫ばれているものの、今のところ有効な方法は確立されていないのが現状である。申請者らは今回、これまでの内分泌代謝学が踏襲してきた脂肪悪玉説から新たに感染症学的観点からの検討を加えた脂肪-感染相互作用説を中心に検討を進めることを計画した。本研究によって新たなインスリン抵抗性惹起分子の存在が明らかになれば同分子を標的とした新規予防・治療法の開発につながり、将来的には増大する医療費の削減にも寄与するものである。

3) 低体重児出産

近年、注目される子宮内・胎児プログラム仮説では、歯周病を含む胎盤機能不全で、胎児の発育が遅れると、新生児に急激な体重増加 (catch up growth) がみられ、成人した後に肥満、高血圧、II型糖尿病、虚血性心疾患などいわゆるメタボリック症候群に罹患する確率が著しく高まるという。これら先天的なメタボリック症候群はDNAのメチル化を介してさらに次世代に伝わる可能性も

あるため、妊婦の歯周病をコントロールすることにより、世代を超えた患者の治療として、人類の健康と福祉に貢献できると考えられる。

低体重出産は成長期の中に健常児出産児に見かけの体重、体格は追いつくとされている。しかし、中年期を過ぎると実際には成人病の発症率が低体重出産児では高いことが明らかになっている。本研究の推進によって歯周病による低体重出産が抑制できれば、国民の成人病を減少させ、ひいては成人病に費やされる医療費の削減に大きな貢献が果たせると考えられる。

2. 歯周病原性細菌の新規病原因子探索

ゲノムプロジェクトを含めたゲノムトランスクリプトーム、プロテオーム研究技術と情報伝達系データベースを応用したバイオインフォマティクス研究を推進する本研究の遂行によって、動脈硬化、糖尿病、低体重出産の誘発に関与する新たな歯周病に対する標的分子の発見と分子治療戦略の促進が期待できる。標的分子の構造解析を通じてこれまでに事例がない歯周病のゲノム創薬開発のための重要な情報を提供できる。

FimA II 型 *P. gingivalis* 菌のゲノム計画を完成させ、さらに URL Website によるゲノム-プロテオーム データベースの公開は、歯周病原細菌の病原因子の研究を推進させるだけでなく歯周病の治療戦略として意義が深いと思われる。本邦歯科医学研究では初となるゲノム計画を基盤とする本研究の遂行は、細菌学的な比較ゲノム科学に貢献するだけでなく、歯周病のパラサイト研究に新しい展開を産みだし、標的分子治療の実現が期待出来ると考える。

3. 粘膜免疫を応用した能動免疫療法、受動免疫療法

1) 粘膜ワクチンの開発

歯周病を予防・治療するワクチンを開発する上で最も重要な点は口腔内に効果的な免疫応答を誘導することである。したがって、粘膜組織に存在する免疫システム、粘膜免疫システムを活性化するワクチンの開発が重要となってくる。そのためには従来の注射による投与ではなく、経口や経鼻免疫法のような粘膜を介した抗原の投与が必要となる。また、経皮免疫法も粘膜免疫システムを活性化することが示唆されている。本研究では、ヒトへの応用をめざした安全かつ有効な経口、経鼻および経皮免疫法、また、それらに用いる粘膜アジュバントの開発をめざす。本研究成果によって得られた粘膜アジュバントは目的とする歯周病やそれに起因する疾患の予防・治療のみならず、他の感染症予防のための経粘膜投与型ワクチンにも応用可能である。

2) 受動免疫抗体の開発

本研究の遂行によって、動脈硬化、糖尿病、低体重出産の発症機序に基づいた新たな歯周病に対する標的分子の発見と具体的な受動免疫療法の実用化が

期待できる。本研究で企画しているヒト型抗体は、ヒトに応用したとき動物抗体が引き起こすような有害な免疫応答を回避できる。能動免疫による歯周病ワクチン療法に比べて受動免疫は口腔内環境で抗体を含嗽や塗布といった投与方法で安全性が高いと考えられることから、本研究で作製するヒト型抗体は歯科領域における免疫療法の先駆けとして実用化出来よう。また、受動免疫療法は長期にわたる効果は期待できず反復投与が必要で実用化するためには多種類の有効性の高いヒト型抗体の量産を実現する必要があるが抗体可変部位の遺伝子クローニングから *Bacillus brevis* 宿主による量産系が可能にする。

本研究が達成されると、ヒト好中球 Fc 受容体に対するモノクローナル抗体との bispecific 抗体の作出に役立てられ、一層効果の高い受動免疫が可能になる。さらにやがて到来すると期待されている食品加工品で摂取できる IgY は更なる児童免疫の実用化を実現する。