

学位研究紹介

歯周炎罹患歯肉組織において CD1d 陽性細胞とナチュラルキラー T 細胞の浸潤は増加している

Increased infiltration of CD1d⁺ and natural killer T cells in periodontal disease tissues

新潟大学医学総合研究科 口腔生命科学専攻
摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野

天沼 亮子

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science,
Course for Oral Life Science, Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
Ryoko Amanuma

【目 的】

近年、脂質抗原に対する免疫応答が感染防御やトランス維持に重要であり、これには抗原提示細胞上の CD1 分子と自己あるいは外来抗原反応性 T 細胞が関与していることが知られるようになった。中でも CD1d 分子は免疫調節機能を持つ natural killer (NK) T 細胞に抗原提示を行い活性化させることが明らかとなっている。ヒトの NKT 細胞は TCR V₂₄ インバリアント鎖を有しており、免疫応答を負に制御する制御性細胞の 1 つとして近年着目されている。我々はこれまで、歯周炎の組織破壊には感染防御免疫のみでなく自己免疫的応答が関与すること、さらに V₂₄ インバリアント NKT 細胞 (V₂₄iNKT) の炎症歯肉組織における比率が末梢血と比較すると有意に高いことを遺伝子発現解析により明らかにしてきた。そこでこの度、歯周組織局所における CD1 アイソフォーム、V₂₄iNKT の発現と局在を免疫組織学的手法により解析することとした。

【方 法】

1. インフォームドコンセントの得られた慢性歯周炎患者 19 名、歯肉炎患者 8 名より歯肉組織を採取し連続凍結切片を作成し、各試料について H-E 染色により歯肉組織中の炎症性細胞浸潤の程度を確認した。

2. CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, invariant V₂₄J Q TCR, CD3, CD19, CD83 に対する特異抗体を用いてアルカリフォスファターゼ抗アルカリフォスファターゼ法, ABC-ペルオキシダーゼ法による単染色および二重染色を行った。
3. 歯周ポケット上皮または歯肉溝上皮直下の結合組織内炎症細胞浸潤について、CD3/CD19 の二重染色の結果をもとに T 細胞及び B 細胞を含む 5 - 6 力所の 0.04mm² のエリアを任意に選択し、連続切片上で各種陽性細胞数と単核球細胞数を測定した。
4. 各測定値の統計学的解析には Mann-Whitney U-test, Wilcoxon's signed rank test および相関分析を用い、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

【結 果】

慢性歯周炎患者 19 名、歯肉炎患者 8 名より作成した連続凍結切片より、それぞれ歯肉組織中の炎症性細胞浸潤の認められた 112 箇所、46 箇所を選択し解析を行った。いずれも歯周ポケット上皮または歯肉溝上皮直下の結合組織中に CD3/CD19 の二重染色にて T 細胞および B 細胞が存在することを確認している。

CD1 アイソフォームにおいて単染色を行ったところ、歯周炎、歯肉炎病変部ともに発現が認められ、特に CD1d 陽性率は CD1a, CD1b, CD1c 陽性率に比べ歯周炎、歯肉炎病変部どちらにおいても有意に上昇していた。また CD83 陽性率と比較したところ、CD1d 陽性率は歯周炎病変部において有意に上昇することが認められた ($p < 0.001$)。群間比較として、歯周炎と歯肉炎とで各分子の陽性率を比較すると、歯周炎病変部での CD1d 陽性率は歯肉炎病変部でのそれに比べ有意に上昇していた ($p = 0.038$)。さらに V₂₄iNKT 陽性率についても歯肉炎に比較して有意に高いことが認められた ($p = 0.018$) (以上図 1)。また、歯周炎病変部における CD1d 陽性細胞と V₂₄iNKT の浸潤に正の相関が認められた ($r^2 = 0.242, P = 0.033$) (図 2)。

次に、CD1d 陽性細胞の細胞種の同定を行うため、CD1d と CD19、および成熟樹状細胞マーカーである CD83 との二重染色を行ったところ、CD1d 陽性細胞と B 細胞の分布に一致が認められたが、成熟樹状細胞とほとんど一致は認められなかった。さらに V₂₄iNKT との二重染色では、CD1d 陽性細胞と V₂₄iNKT との近接している像が認められた。

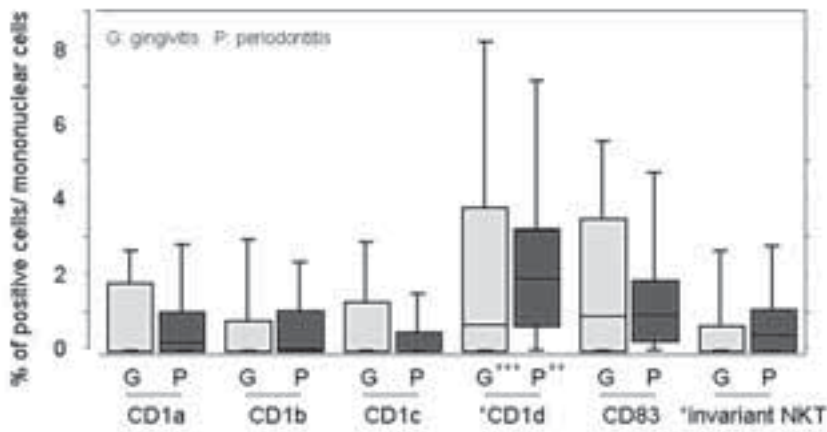


図 1

歯周炎 (P) と歯肉炎 (G) における CD1 アイソフォーム, CD83, invariant NKT の単核細胞数に対する陽性率を箱ひげ図にて示したものである。

* 歯周炎で CD1d と invariant NKT の単核細胞数に対する陽性率は歯肉炎に比べ有意に高いことが認められた ($p < 0.001$)。

** 歯周炎で CD1d 陽性率が CD1a, -b, -c, CD83 に比べ有意に高く ($P = 0.038$), *** 歯肉炎で CD1d 陽性率が CD1a, -b, -c に比べ有意に高い ($P = 0.018$) ことが認められた。

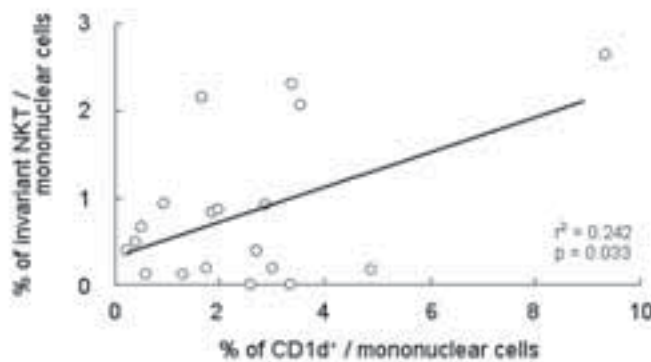


図 2

歯周炎における CD1d と invariant NKT の単核細胞数に対する陽性率の分布を示す。Invariant NKT 陽性率は CD1d 陽性率と正の相関があることが認められた。

【考 察】

歯周病原細菌感染による慢性炎症病変であるヒト歯周炎歯肉組織において、CD1d, V_{24i}NKT 陽性率ともに歯肉炎に比べ有意に上昇していた。また、CD83 陽性率と比較しても CD1d 陽性率は歯周炎歯肉組織において有意に上昇することが認められたことから、歯周炎病変部では成熟樹状細胞のみならず CD1d 陽性細胞も抗原提示細胞として重要であることが示唆された。CD1d は成熟樹状細胞にも発現することが知られているが、歯周炎病変部の二重染色においてはほとんど認められなかった。さらに CD1d 発現と B 細胞の分布が一致していたことから、歯肉炎に比較して有意に高い B 細胞病変である歯周炎組織において、B 細胞が脂質抗原提示細胞として働いている可能性が示唆された。

また、NKT 細胞は細菌感染や自己免疫において重要であることが知られているが、最近の報告では、NKT 細胞は外来抗原のみならず、LPS 刺激により産生誘導された自己抗原を認識することが分かっている。今研究において、歯周炎歯肉組織中の浸潤細胞に占める V_{24i}NKT の割合が上昇していること、また CD1d 発現と B 細胞の分布が一致し、V_{24i}NKT と CD1d 陽性細胞との近接像が認められたことから、歯周炎病変部に

おいて浸潤 B 細胞上の CD1d が V_{24i}NKT に抗原を提示し、NKT 細胞活性化を誘導することが考えられる。

【結 語】

歯周炎罹患歯肉組織における V_{24i}NKT の局在と CD1d との関与が明らかとなり、歯周病原細菌の感染の過程で生じた自己免疫応答の制御に関与する可能性が示唆された。

【文 献】

- Amanuma R, Nakajima T, Yoshie H, Yamazaki K: Increased infiltration of CD1d+ and natural killer T cells in periodontal disease tissues. *J Periodontol Res*, 41: 73-79, 2006.
- Ito H, Honda T, Domon H, Oda T, Okui T, Amanuma R, Nakajima T, Yamazaki K: Gene expression analysis of the CD4⁺ T-cell clones derived from gingival tissues of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*, 20: 382-386, 2005.