

研究者：和唐 薫子（所属：大阪大学大学院歯学研究科小児歯科学教室）

研究題目：ラット齲蝕—IgA 腎症関連モデルの構築

目的：

IgA 腎症は慢性糸球体腎炎の中で最も多く、若年者が腎不全に陥ることで透析を余儀なくされている症例も多い。IgA 腎症では、腎臓のメサングウム細胞の増殖や IgA の沈着を認めるが、その詳細なメカニズムは不明である。近年、口腔疾患と全身疾患との関連が注目されており、口腔内の存在するコラーゲン結合タンパク（Cnm）を発現する *Streptococcus mutans* 株の及ぼす全身への影響が注目されている。これまでに、IgA 腎症患者の口腔内では菌体表層に Cnm を発現する *S. mutans* 株が多く検出されることが明らかになった。また、これらの株が口腔内に存在する IgA 腎症患者では、齲蝕および尿タンパクが有意に多く認められることが分かった。本研究では、従来のラット齲蝕モデルのプロトコルを応用することで、IgA 腎症様の病変を惹起させる「ラット齲蝕—IgA 腎症関連モデル」の確立を目指すことにした。

対象および方法：

1. 使用した *S. mutans* 菌株

IgA 腎症患者の唾液中から分離した菌体表層に Cnm を発現する *S. mutans* SN74 株を使用した。なお、以下のラットモデルの動物実験には、この菌株をストレプトマイシン（1500 μ g/ml）耐性として標識付けした SN74R 株を用いた。

2. ラットモデルにおける検討

本研究は、岡山大学動物実験委員会の承認（承認番号：OKU2017213）を得て行った。15 日齢オスの Specific Pathogen Free の Sprague-Dawley 系ラット（日本 SLC、静岡）の口腔内に 2 日間ピペットを用いて抗生物質を投与して口腔常在細菌を抑制した。その後、10 匹のラットに $10^{10} \sim 10^{11}$ CFU 程度の供試菌を 1 日 1 回 5 日間にわたりピペットを用いて口腔内に直接投与して *S. mutans* 菌株を定着させることにした（SN74R 群）。一方で、菌を定着させない群を設け（10 匹、コントロール群）、両群にスクロース 56 % 含有齲蝕誘発性飼料（Diet 2000、日本クレア、東京）を与えた。従来のラット齲蝕モデルの飼育期間は 10 週程度であるが、慢性経過をたどる IgA 腎症誘発検討のため長期に飼育して重度の齲蝕を誘発させることにした。そして、生後 34 週目に屠殺し腎臓の摘出を行い、顎骨を摘出してプラークスコアおよび齲蝕スコアを算出した。また、腎臓組織の病理組織学的評価として Periodic Acid-Schiff（PAS）染色および IgA 抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。

結果および考察：

1. プラークスコアおよび齲蝕スコア

SN74R 株群のプラークスコアおよび齲蝕スコアは、コントロール群と比較して、有意に高い

値を示した。また、観察された齲蝕のほとんどが重度であり歯髓腔に到達していた（図1、2）。

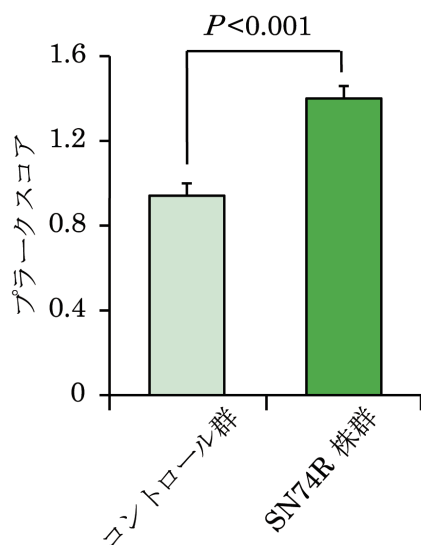


図1 プラークスコア

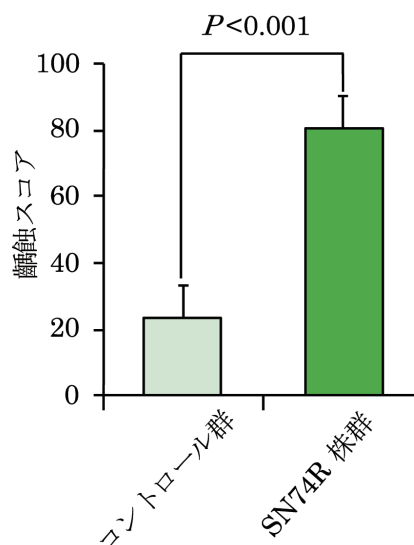


図2 齲蝕スコア

2. 腎臓組織における組織学的評価

PAS 染色では、SN74R 株群においてコントロール群と比較して、メサンギウム細胞および基質の増加が観察された（図3）。IgA 抗体を用いた蛍光免疫染色では、SN74R 株群においてコントロール群と比較して、パラメサンギウム領域に IgA の沈着が多く認められた（図4）。

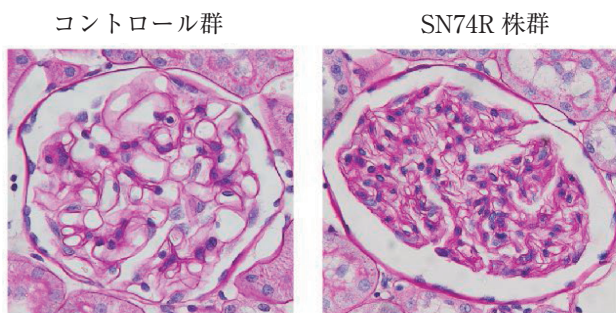


図3 ラット腎臓糸球体における PAS 染色像

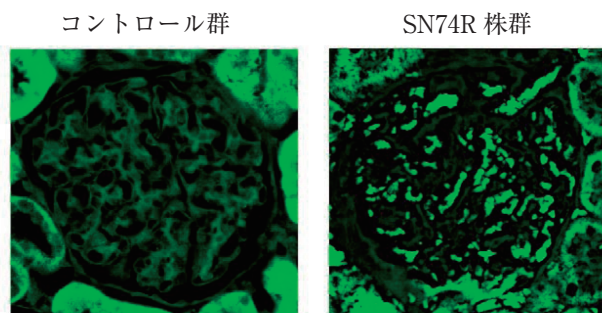


図4 ラット腎臓糸球体における IgA 抗体を用いた蛍光免疫染色像

本研究の結果から、IgA 腎症患者の唾液検体から分離した Cnm を発現する *S. mutans* 株をラットの口腔内に定着させ長期飼育すると、重度齲蝕が誘発されるとともに IgA 腎症様の腎炎が発症することが明らかになり、「ラット齲蝕—IgA 腎症関連モデル」を確立することができた。今後、このモデルを用いて IgA 腎症発症メカニズムの詳細を追究していきたいと考えている。

成果発表：

1. 和唐薫子、仲 周平、畠山理那、野村良太、仲野道代、仲野和彦 ラット齲蝕モデルにおける腎臓の免疫組織学的評価 第56回日本小児歯科学会大会、大阪、2018年5月10～11日
2. Wato K, Naka S, Misaki T, Hatakeyama R, Nagasawa Y, Ito S, Inaba H, Nomura R, Matsumoto-Nakano M, Nakano K. Intravenous administration of *Streptococcus mutans* induces IgA nephropathy in rats. The 66th Annual Meeting of the Japanese Division of the International Association for Dental Research, Sapporo, Japan, November 17-18 2018.