

Dysbiosis of the gut microbiome may contribute to the pathogenesis of oral lichen planus through Treg dysregulation

横溝, 志保

<https://hdl.handle.net/2324/7396194>

出版情報 : Kyushu University, 2025, 博士 (歯学), 課程博士
バージョン :
権利関係 : © 2025 The Author(s).



氏 名 : 横溝 志保

論文名 : Dysbiosis of the gut microbiome may contribute to the pathogenesis of oral lichen planus through Treg dysregulation

(腸内細菌叢 dysbiosis による制御性 T 細胞の機能異常を介した口腔扁平苔癬の病態形成)

区 分 : 甲

論文内容の要旨

口腔扁平苔癬 (OLP) は、口腔粘膜に生じる慢性炎症性疾患であり、 $CD4^+$ T 細胞がその病態形成に重要であることが知られている。近年、同じく T 細胞が病態形成に関与するアレルギー疾患や炎症性腸疾患で、腸内細菌叢の異常 (dysbiosis) がその発症に関与するとの報告が相次いでいる。OLP が炎症性粘膜炎であることを考慮すると、dysbiosis が病態形成に関与する可能性は十分に考えうる。本研究は、OLP の病態と dysbiosis との関連を解明することを目的とした。

まず、OLP 33 名と健常者 30 名より採取した糞便を用いて 16S rRNA 解析を行い、両群の腸内細菌叢を比較解析した。その結果、OLP 患者では、健常者と比較して制御性 T 細胞 (Treg) の分化・活性化に重要とされる短鎖脂肪酸産生菌 (SCFAs) である *Faecalibacterium prausnitzii* (*F. prausnitzii*)、*Bifidobacterium adolescentis* (*B. adolescentis*)、*Bifidobacterium longum* (*B. longum*) の総体存在量が低下していた。続いて、OLP 5 名と健常者 6 名より採取した糞便を用いて高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法を行ったところ、OLP 患者では、健常者と比較し、産出される酪酸、酢酸およびプロピオン酸の総量が減少していた。同様に OLP 33 名と健常者 30 名より採取した唾液を用いて 16S rRNA 解析を行い、両群の口腔細菌叢を比較解析したところ、OLP と健常者では明らかに異なっていた。続いて、OLP 25 名の組織標本を用いて、T 細胞を含む免疫細胞とサイトカインの多重蛍光免疫染色を行い、定量解析を行ったところ、OLP 組織では、病変局所に Treg の浸潤を多数認めた。細菌叢解析では Treg 分化不全が生じる可能性が示唆されたにも関わらず、Treg 自体は病変組織に浸潤しており、これらの浸潤している Treg の機能不全を疑った。そこで、OLP 組織から全免疫細胞を抽出し、シングルセル解析 (scRNA-seq) による遺伝子発現解析と TCR 多様性解析を行ったところ、口腔扁平上皮癌 (OSCC) と比較し、Treg の浸潤を認めたが、そのクローナリティーは低かった。scRNA-seq 解析の結果を検証するために、OLP と非特異性潰瘍、白板症 (OED)、口腔扁平上皮癌 (OSCC) の組織の Treg について多重免疫蛍光染色にて比較した。その結果、OLP では OED および OSCC と比較して、 $IL10^+$ Treg、 $TGF-\beta^+$ Treg および $CTLA-4^+$ Treg の割合が低下していた。組織と腸内細菌叢の関連を比較したところ、属レベルでは、*Bifidobacterium* と $CD25^+$ Treg が、種レベルでは *F. prausnitzii* と $TGF-\beta^+$ Treg および *B. longum* と $CD25^+$ Treg が有意な正の相関関係を認めた。最後に OLP 14 名と健常者 10 名より血液を採取し、末梢血単核細胞 (PBMC) を単離し、フローサイトメトリーによる解析を行ったと

ころ、OLP 患者の PBMC では、健常者と比較して Treg の増加を認めたが、CD25⁺ Treg および TGF- β ⁺ Treg の割合は低下していた。さらに、OLP 4 名と健常者 5 名の PBMC から Treg を単離し、その機能について *in vitro* にて検証したところ、OLP 患者の Treg は健常者と比べて T 細胞の増殖抑制機能が低下していた。次に、OLP 患者 5 名の Treg を酪酸、酢酸、プロピオン酸と共培養し、フローサイトメトリーと ELISA で解析した結果、IL10、TGF- β の発現が上昇した。これらの結果より、腸内細菌叢の dysbiosis、特に短鎖脂肪酸産生菌の減少により、循環血液と病変局所において機能不全の Treg が増加し、OLP の病態形成に関与している可能性が示唆された。