

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20406

研究課題名(和文) 歯髄炎の病態形成における象牙芽細胞の細菌由来因子に対する自然免疫機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the innate immune response of odontoblasts against bacteria-derived factor in the pathogenesis of pulpitis

研究代表者

武川 大輔 (TAKEGAWA, Daisuke)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：10632664

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：近年のう蝕(むし歯)治療において、可能な限り歯髄を保存しようとする機運が非常に高まってきている。そのためには、歯髄炎発症のメカニズムを解明すると同時に、どのような歯髄の状態なら歯髄保存が可能なのかを知ることが重要となる。

本研究では、免疫系に対して調節作用を有する因子の一つであるインターフェロン(IFN-)が、歯髄炎における象牙芽細胞の生体反応において重要な役割を果たしていることを明らかにした。

歯髄炎の病態形成における象牙芽細胞の役割が明らかになることで、今後歯髄炎の病態解明だけでなく、新たな治療法の開発にも応用が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In the progression of pulpitis, marked infiltration of inflammatory cells such as activated T cells producing interferon- (IFN-) is observed. Odontoblasts located in the outermost layer of dental pulp first recognize caries-related pathogens, and have a capacity to produce various pro-inflammatory cytokines in response to microbial pattern recognition receptors.

This study demonstrated the synergistic effects of IFN- on cytokine production in KN-3 cells stimulated with bacteria-derived factors. These findings suggest that IFN- may modulate the innate immune response in odontoblasts.

研究分野：歯科保存学

キーワード：歯髄炎 象牙芽細胞 自然免疫 インターフェロン

1. 研究開始当初の背景

近年、可能な限り生活歯髄を保存しようとする機運が高まってきており、どのような歯髄の状態なら歯髄保存が可能なのかを正確に知ることは非常に重要な課題である。また、臨床所見に頼らない定量的、定性的な歯髄炎の病態把握が可能になれば、新たな歯髄保存治療の開発にもつながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、免疫系に対して調節作用を有する因子の一つであるインターフェロン γ (IFN- γ) に着目し、外来刺激やう蝕侵入に対する歯髄生体防御の最前線に存在する象牙芽細胞の自然免疫応答における IFN- γ の役割を解明することを目的とする。すなわち、象牙芽細胞様細胞 (KN-3 細胞) において、IFN- γ が IL-6 や CXCL10 といった炎症関連メディエーターの産生やIDOタンパク発現に及ぼす影響を検討することにより、歯髄炎の病態形成における IFN- γ の役割を追求する。

3. 研究の方法

(1) 象牙芽細胞の自然免疫応答に対する IFN- γ の影響を検討するため、KN-3 細胞に対して、自然免疫関連受容体 (pattern recognition receptors, PRRs) のリガンドとともに IFN- γ を一定時間作用させ、培養上清中の炎症関連メディエーターの濃度を ELISA 法にて測定した。

(2) 炎症性メディエーターの発現に関わる経路を特定することを目的とし、PKC および MAPK のリン酸化について、各リン酸化 kinase 特異抗体を用いたウエスタンブロットングにて活性化の有無を検討した。

(3) 象牙芽細胞における IFN- γ と IDO 発

現との関連性を明らかにすることを目的とし、IFN- γ で刺激した KN-3 細胞における IDO タンパクの発現を、ウエスタンブロットングにて解析した。

4. 研究成果

(1) IFN- γ で刺激した KN-3 細胞において、CXCL10 の産生が認められ、その産生量は濃度依存的に増加した。Toll-like receptor (TLR) リガンドのみで刺激を行った KN-3 細胞においては、CXCL10 の産生は認められず、IFN- γ と共刺激させることで産生量に変化は見られなかった。一方、NOD (Nucleotide binding oligomerization domain) リガンドのみで刺激した KN-3 細胞において CXCL10 の産生は認められなかったが、IFN- γ との共刺激により CXCL10 の産生が認められ、その効果は IFN- γ 濃度に依存して増大した。

(2) さらに、IFN- γ で刺激した KN-3 細胞に、NOD1 リガンドである iE-DAP を共刺激させることで、好中球走化性因子である CINC-2 の産生が認められ、その産生量は IFN- γ 濃度に依存して相乗的に増加した。

(3) IFN- γ で刺激した KN-3 細胞において、STAT (Transducers and Activator of Transcription) 1 のリン酸化が認められた。また、IFN- γ で刺激した KN-3 細胞に iE-DAP を共刺激させることで、その反応やや増強された。

(4) 一方、ヒト歯髄細胞で発現が認められたインドールアミン酸素添加酵素 (Indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) については、KN-3 細胞からの発現は認められなかった。

以上の結果より、IFN- γ が STAT1 の経路を介して歯髄最外層に位置する象牙芽細胞の CXCL10 や CINC-2 産生に影響を与えていることが明らかとなり、IFN- γ が歯髄炎における象牙芽細胞の生体反応において重要な役割を果たしていることが示唆された。歯髄炎の病態形成における IFN- γ の役割が明らかになることで、今後歯髄炎の病態解明だけでなく、歯髄炎の診断や新たな治療法の開発にも応用が期待できる。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

Functional roles of NOD1 in odontoblasts on dental pulp innate immunity. Yuki Hosokawa, Kouji Hirao, Hiromichi Yumoto, Ayako Washio, Tadashi Nakanishi, Daisuke Takegawa, Chiaki Kitamura, Takashi Matsuo, Biomed Res Int. 2016 (2016), (査読有)

[学会発表](計 7 件)

Interferon- γ modulates the innate immune response in odontoblast-like cells. Daisuke Takegawa, Tadashi Nakanishi, Kouji Hirao, Hiromichi Yumoto, Yuki Hosokawa, Takashi Matsuo, IADR General session 2017, San Francisco (USA), 2017 年 3 月 22~25 日

Effect of interleukin-17A on CCL20 production from odontoblast-like cells. Tadashi Nakanishi, Daisuke Takegawa, Kouji Hirao, Hiromichi Yumoto, Yuki Hosokawa, Takashi Matsuo, IADR General session 2017, San Francisco (USA), 2017 年 3 月 22~25 日

Anti-Inflammatory effects of polyphenols on rat odontoblastic cells. Yuki Hosokawa,

Hiromichi Yumoto, Kouji Hirao, Hitomi Kuramoto, Tadashi Nakanishi, Daisuke Takegawa, Takashi Matsuo, IADR General session 2017, San Francisco (USA), 2017 年 3 月 22~25 日

Interleukin-17 がラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) の CCL20 産生に及ぼす影響 中西 正, 武川 大輔, 平尾 功治, 湯本 浩通, 細川 由樹, 松尾 敬志, 日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会 (143 回), 文京シビックホール(東京都文京区), 2015 年 11 月 12~13 日

象牙芽細胞が有する Mincle を介した視細胞認識機構とその歯髄炎症反応における役割 細川 由樹, 湯本 浩通, 平尾 功治, 中西 正, 武川 大輔, 松尾 敬志, 日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会 (143 回), 文京シビックホール(東京都文京区), 2015 年 11 月 12~13 日

ラット象牙芽細胞 (KN-3) の自然免疫反応におけるシグナル伝達経路の解析 平尾 功治, 湯本 浩通, 細川 由樹, 中西 正, 武川 大輔, 松尾 敬志, 日本歯科保存学会 2015 年度春季学術大会(第 142 回), 九州国際会議場(福岡県北九州市) 2015 年 6 月 25~26 日

ラット象牙芽細胞 (KN-3) に対するカテキンとカフェイン酸の抗炎症作用, 細川 由樹, 湯本 浩通, 平尾 功治, 中西 正, 武川 大輔, 松尾 敬志, 日本歯科保存学会 2015 年度春季学術大会(第 142 回), 九州国際会議場(福岡県北九州市) 2015 年 6 月 25~26 日

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

武川 大輔 (TAKEGAWA, Daisuke)

徳島大学・病院・助教

研究者番号 : 10632664