

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17052

研究課題名(和文) アメロジェニンの炎症制御機序の解明—マクロファージM2極性化の観点から

研究課題名(英文) Amelogenin downregulates interferon gamma-induced major histocompatibility complex class II expression in macrophages

研究代表者

田中 麗 (Tanaka, Urara)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50734993

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：エナメル基質蛋白質(EMD)を用いた歯周組織再生療法は、歯周外科術後の疼痛や歯肉腫脹等の炎症反応が少なく、治癒転機が良好であることが臨床的あるいは動物実験の結果から知られている。そこで、EMDの主成分であるアメロジェニンがマクロファージの抗原提示へ及ぼす影響とそのメカニズムの解明を目的として研究を行った。その結果、アメロジェニンは早期にマクロファージ核内のクロマチン構造を変換し、ユークロマチン化を抑制することでCIITAプロモーターIV領域の転写・翻訳を阻害し、MHC II分子の細胞表面発現やヘルパーT細胞の活性を抑制することで炎症を抑えていることを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯周組織再生療法で臨床応用されているアメロジェニンは抗原提示を抑制することで、Th1細胞による細胞性免疫を中心とした免疫応答の発動を制御し、結果的に外科処置後の創傷治癒を促進させている可能性を見出した。アメロジェニンによる組織再生誘導促進効果の起点は免疫細胞における炎症制御にある可能性が高く、将来的に、アメロジェニンを利用した新規歯周治療薬の開発に資するのみでなく、生体蛋白であるアメロジェニンが臓器移植における拒絶反応の制御を始め、1型糖尿病、多発性硬化症、関節リウマチなどのMHC II関連自己免疫疾患に対する安全な免疫抑制剤として応用できる可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Enamel matrix derivatives (EMDs)-based periodontal tissue regenerative therapy is known to promote healing with minimal inflammatory response after periodontal surgery, i. e., it promotes wound healing with reduced pain and swelling. It has also been reported that macrophages stimulated with amelogenin, a major component of EMD, produce various anti-inflammatory cytokines and growth factors. We previously found that stimulation of monocytes with murine recombinant M180 (rM180) amelogenin suppresses major histocompatibility complex class II (MHC II) gene expression using microarray analysis. However, the detailed molecular mechanisms for this process remain unclear. In this study, we demonstrated that amelogenin suppresses MHC II expression by altering chromatin structure and inhibiting CIITA p-IV transcription activity, and attenuates subsequent T cell activation.

研究分野：歯周病学

キーワード：歯周炎 アメロジェニン マクロファージ 抗原提示

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

エナメル基質蛋白質 (EMD) を用いた歯周組織再生療法は、歯周外科術後の疼痛や歯肉腫脹等の炎症反応が少なく、治癒転機が良好であることが臨床的あるいは動物実験の結果から知られている。また、エムドゲインの主成分であるアメロジェニンでマクロファージを刺激すると種々の抗炎症性サイトカインが産生されることも報告されている。先行研究においてマイクロアレイ解析の結果から、アメロジェニンが単球における主要組織適合遺伝子複合体クラス II (MHC II) の遺伝子発現を抑制することを見出した。しかしながら、このマクロファージにおける抗炎症性への極性化がマクロファージ本来の機能である抗原提示能に及ぼす影響については明らかとなっていない。

2. 研究の目的

既に臨床効果がある程度実証されている EMD の主成分であるアメロジェニンの創傷治癒促進効果を分子レベルで解明することは、臨床的な観点から意義深い。

歯周病感染に対する免疫応答はマクロファージによる外来抗原の認識と提示が起点となることから、アメロジェニンの再生の場における免疫制御能およびその詳細なメカニズムを解明することを目的として、アメロジェニンがマクロファージによる IFN 誘導性 MHC II 抗原提示能に与える影響を検討した。

3. 研究の方法

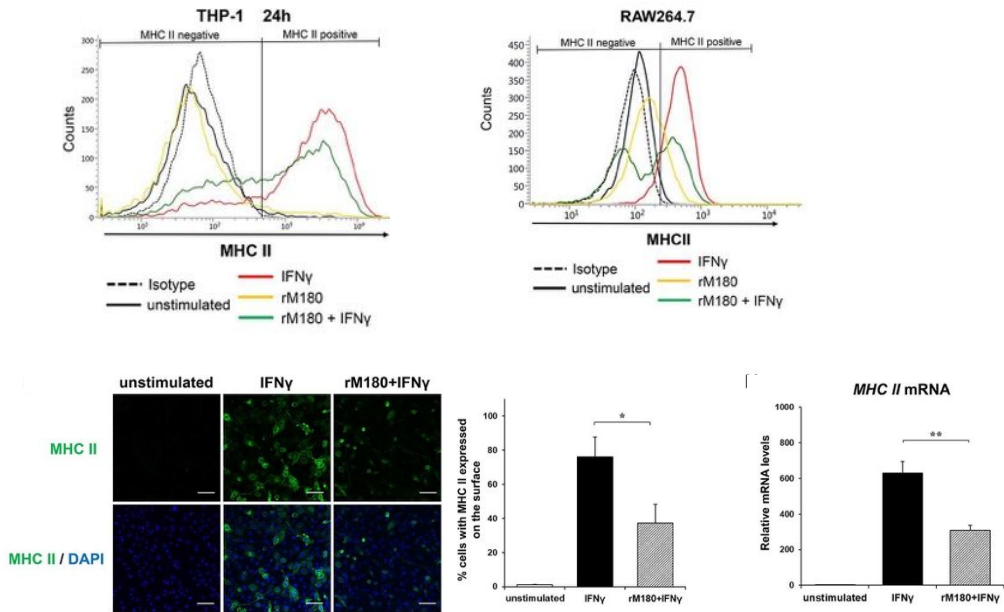
ヒトマクロファージ株 THP-1 細胞およびマウスマクロファージ株 RAW264.7 細胞を使用してアメロジェニン刺激による MHC II 抗原提示反応をフローサイトメトリー法、リアルタイム PCR 法で解析した。

また、アメロジェニンがマクロファージによる IFN 誘導性 MHC II 抗原提示能に与える影響のメカニズムについて、THP-1 細胞を用いて解析した。

4. 研究成果

アメロジェニンの THP-1 細胞および RAW264.7 細胞における IFN 誘導性 MHC II 発現への影響

アメロジェニンは IFN 刺激による MHC II の遺伝子発現および細胞表面発現を抑制した。同様の効果は、種を超えてマウスマクロファージ株 RAW264.7 細胞でも確認された。

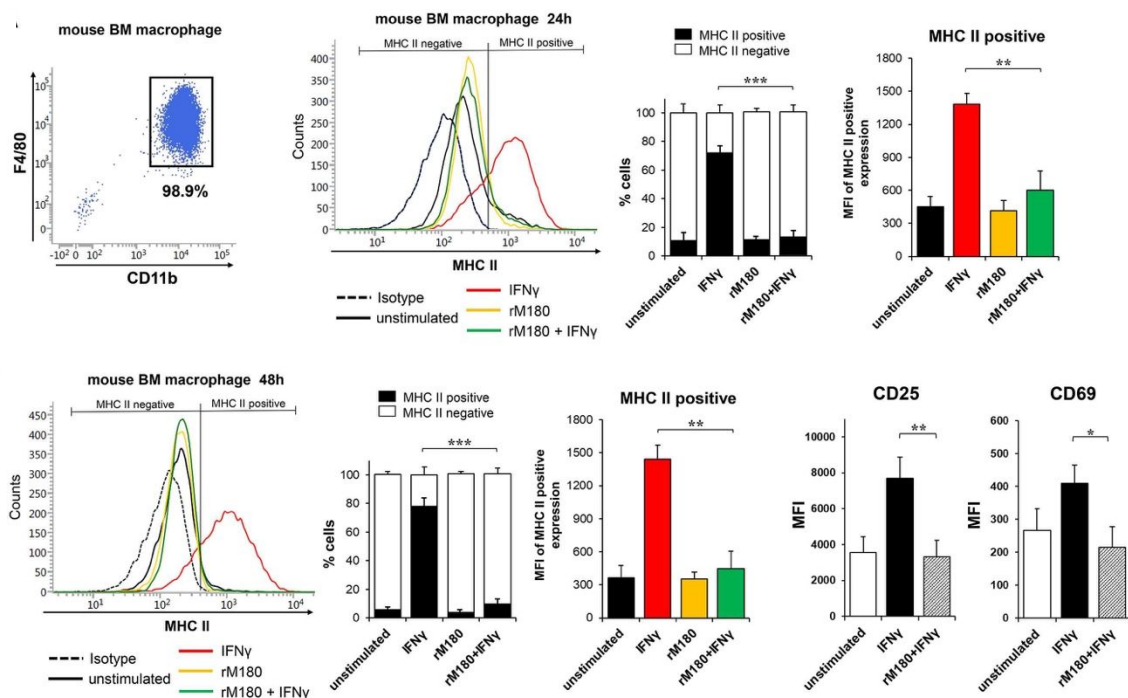


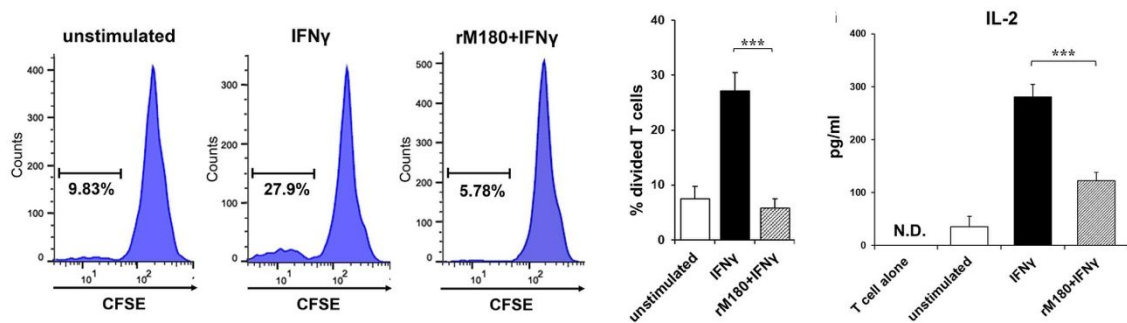
アメロジェニンの細胞内への取り込み

アメロジェニンの細胞内への取り込みを観察するため、アメロジェニンを蛍光標識した後に蛍光免疫染色を行った。アメロジェニンは刺激2分で細胞質に取り込まれ、5分で核内へ移行、15分で最も核内に蓄積した。

アメロジェニンによるマクロファージのMHC II発現抑制がT細胞の活性に及ぼす影響

アメロジェニンで前処理したマクロファージのMHC II発現抑制は、T細胞との混合リンパ球反応試験において、T細胞の活性化マーカーであるCD25、CD69の発現量、T細胞増殖能、およびCD4陽性T細胞からのIL-2の産生量を低下させ、T細胞活性を抑制した。

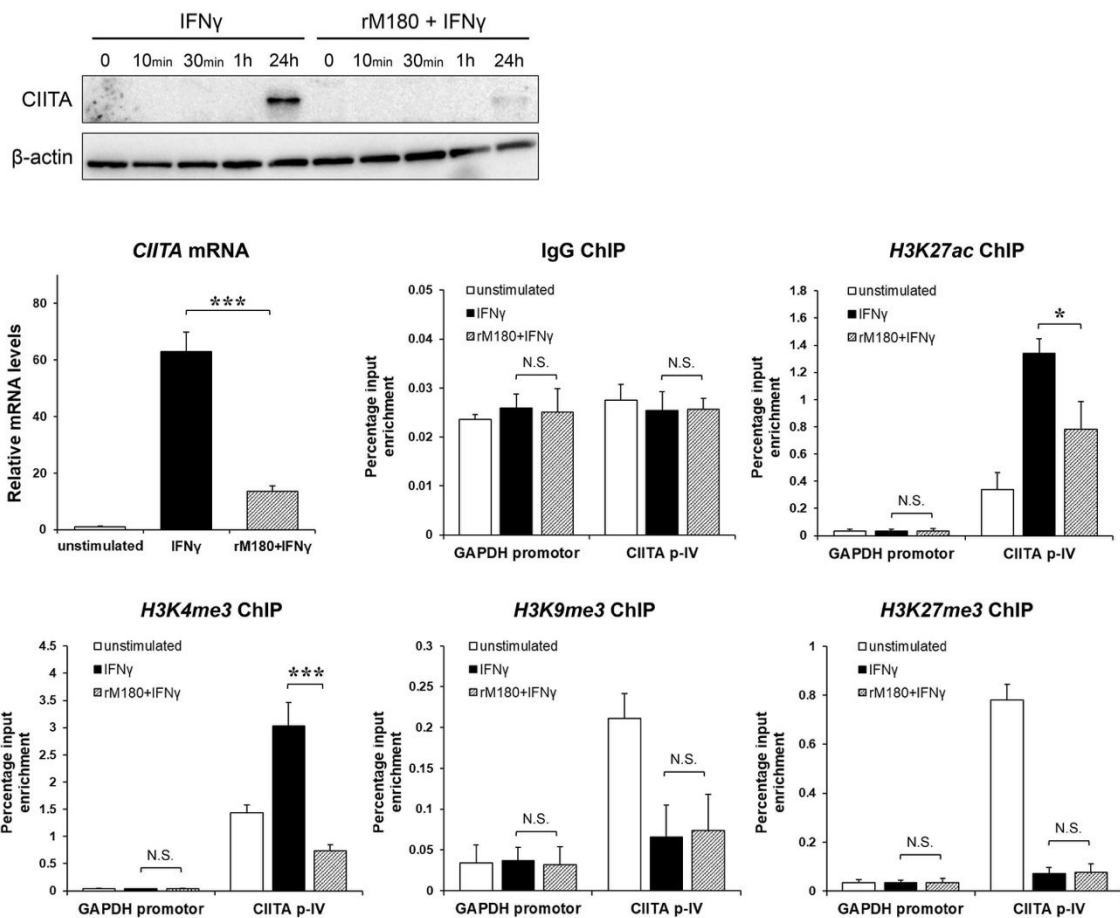




アメロジェニン刺激によるMHC II分子の細胞表面発現やヘルパーT細胞活性の抑制メカニズムの解明

アメロジェニン刺激によりMHC II発現に必須の転写活性化因子であるMHC II トランス活性化因子 (CIITA) のタンパク発現および遺伝子発現を抑制した。

また、CIITA プロモーターIV領域のH3K27 アセチル化、H3K4 トリメチル化(ユークロマチン化：転写活性の促進)が抑制を受けた。つまり、アメロジェニンは早期にマクロファージ核内のクロマチン構造を変換し、ユークロマチン化を抑制することでCIITA プロモーターIV領域の転写・翻訳を阻害し、MHC II分子の細胞表面発現やヘルパーT細胞の活性を抑制することで炎症を抑えていることを示した。



以上のことから、歯周組織再生療法で臨床応用されているアメロジェニンは抗原提示を抑制することで、Th1細胞による細胞性免疫を中心とした免疫応答の発動を制御し、結果的に外科処置後の創傷治癒を促進させている可能性を見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yotsumoto Karen, Sanui Terukazu, Tanaka Urara, Yamato Hiroaki, Alshargabi Rehab, Shinjo Takanori, Nakao Yuki, Watanabe Yukari, Hayashi Chikako, Taketomi Takaharu, Fukuda Takao, Nishimura Fusanori	4. 巻 11
2. 論文標題 Amelogenin Downregulates Interferon Gamma-Induced Major Histocompatibility Complex Class II Expression Through Suppression of Euchromatin Formation in the Class II Transactivator Promoter IV Region in Macrophages	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 709
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.00709	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 四本かれん、田中麗、讃井彰一、大和寛明、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、西村英紀
2. 発表標題 アメロジェニンがマクロファージによる抗原提示を抑制させる
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会（第150回）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大和寛明、讃井彰一、四本かれん、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、田中麗、西村英紀
2. 発表標題 アメロジェニンおよび胃潰瘍治療薬テブレノンが歯根膜細胞機能に与える影響
3. 学会等名 日本歯科保存学会2019年度春季学術大会（第150回）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 四本かれん、田中麗、讃井彰一、大和寛明、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、西村英紀
2. 発表標題 アメロジェニンがマクロファージにおける IFN 誘導性 MHC クラスII分子の発現を抑制する
3. 学会等名 第62回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名	四本かれん、田中麗、讃井彰一、大和寛明、中尾雄紀、渡邊ゆかり、林千華子、福田隆男、西村英紀
2. 発表標題	アメロジェニンによるマクロファージによる IFN-誘導性MHCクラスIIの抗原提示を抑制する
3. 学会等名	令和元年度日本歯周病学会九州5大学・日本臨床歯周病学会九州支部合同研修会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	大和寛明、讃井彰一、四本かれん、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、田中麗、西村英紀
2. 発表標題	胃潰瘍薬テプレノンとアメロジェニンによる歯周組織再生誘導の可能性
3. 学会等名	令和元年度日本歯周病学会九州5大学・日本臨床歯周病学会九州支部合同研修会
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	Urara Tanaka, Karen Yotsumoto, Terukazu Sanui, Takao Fukuda, Hiroaki Yamato, Yuki Nakao and Fusanori Nishimura
2. 発表標題	Effect of amelogenin on antigen presentation in macrophages
3. 学会等名	the 96th General Session of the IADR (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	中尾 雄紀,福田 隆男, 讃井 彰一, 田中 麗, 渡邊 ゆかり, 大和 寛明, 四本 かれん, 西村 英紀
2. 発表標題	歯肉幹細胞由来エクソソームによる抗炎症性マクロファージ誘導機序の検討
3. 学会等名	第61回秋季日本歯周病学会学術大会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 中尾 雄紀, 福田 隆男, 讃井 彰一, 田中 麗, 渡邊 ゆかり, 大和 寛明, 四本 かれん, 西村 英紀,
2. 発表標題 歯肉幹細胞由来エクソソームによる抗炎症性マクロファージ誘導機序の検討
3. 学会等名 平成30年度日本歯周病学会九州五大学日本臨床歯周病学会九州支部合同研修会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関