

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22792080

研究課題名（和文） 歯周炎疾患進行における TGF beta を起点とした Th17 制御メカニズムの解析

研究課題名（英文） Mechanism of Th17 regulation based on TGF beta in progression of periodontitis

研究代表者

小林 宏明 (KOBAYASHI HIROAKI)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：50396967

研究成果の概要（和文）：侵襲性歯周炎患者末梢血の血清中 IL-17F, IL-17A 濃度は、健常者に比べて、侵襲性歯周炎患者で低い値を示した。特に IL-17F は、健常者や慢性歯周炎患者に比べて、侵襲性歯周炎患者で低い値を示した。しかしながら、侵襲性歯周炎患者において IL-17F 量が高値を示した患者が5名いた。そして、この患者は、いずれも限局性の侵襲性歯周炎であり、骨吸収はあまり進んでいなかった。

研究成果の概要（英文）：Concentration of IL-17F and IL-17A in serum from aggressive periodontitis is lower than that of healthy control. Concentration of IL-17F in Aggressive periodontitis is lower than that of chronic periodontitis. 5 patients who have high IL-17F level in serum, have localized periodontitis lesion, and their bone loss levels were not severe as compared to other aggressive patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1900000	570000	2470000
2011年度	1200000	360000	1560000
年度			
年度			
年度			
総計	3100000	930000	4030000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・歯周治療系歯学

キーワード：歯周病、IL-17A、IL-17F

1. 研究開始当初の背景

歯周疾患は、歯周病原細菌による感染性疾患であるが、その病態・進行度は個体によっ

て異なる。ヒトの免疫応答には様々なものがあり、その中で CD4 陽性 T 細胞の免疫応答である Th1/Th2 の免疫応答に関して長い間議論がなされてきた。近年、Th17 が免疫応答において重要な役割を担っていることが報告された。一方、調節性 T (Treg) 細胞もまた、細菌による免疫応答や炎症を制御することが報告されている。この 2 つのタイプの細胞の分化には、トランスフォーミング増殖因子 β (TGF β) が必要である。TGF β は免疫反応の正と負の調節に関与する Th17 細胞と Treg 細胞の両者の分化誘導に必須であるにも関わらず、歯周炎における免疫応答に関しての TGF β の役割はほとんど解明されていない。また、Th17 細胞の産生する IL-17 に関しては、侵襲性歯周炎患者血清中の濃度が上昇することが知られており、組織破壊との関連性が報告されている。この IL-17 には、相同性の高い IL-17A と IL-17F、IL-17A/F の 3 種類があるが、歯周炎における、その役割について不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、Th17 分化における TGF β の役割と、個体の IL-17A, IL-17F, そして IL-17A/F の 3 種の血清濃度を比較検討ことである。

3. 研究の方法

TGF β 産生に関して、THP-1 細胞を用いて解析を行った。本研究では、TLR2 のリガンドとして、*P. gingivalis* LPS, TLR4 のリガンドとして *A. actinomycetemcomitans* LPS, TLR9 のリガンドとして CpG、炎症誘導物質である HMGB1、神経伝達物質である Anandamide を刺激因子として用いた。単球系細胞である THP-1 をこれらの因子にて刺激し、TGF β 産生量を ELISA 法にて測定した。また、レセ

プターを特定する目的で、CB1 レセプターアンタゴニストとして AM281、CB2 レセプターアンタゴニストとして AM630、TRPV1 レセプターのアンタゴニストであるカプサゼピンを用いた。

また、IL-17A, F, A/F の個体差を知るために、侵襲性歯周炎患者 66 名の初診時に血液を採取し、血清中の IL-17A, IL-17F, IL-17A/F の濃度を ELISA 法にて測定した。

4. 研究成果

現在までに報告の多い細菌性刺激因子として、(TLR2のリガンドとして、*P. gingivalis* LPS, TLR4 のリガンドとして *A. actinomycetemcomitans* LPS, TLR9のリガンドとして CpG) に加え、炎症誘導物質である HMGB1 や、神経伝達物質である Anandamide を刺激因子として研究を行った。単球系細胞である THP-1 をこれらの因子にて刺激し、TGF β 産生量を検討したところ、細菌性刺激因子だけではなく、神経伝達物質による刺激によっても、TGF β が産生されることが明らかとなった。また、この TGF β 産生は、CB2 レセプター及び TRPV1 レセプターを介した経路により産生されていた。そして、単球系細胞を神経伝達物質で刺激し、様々なサイトカイン産生量を測定したところ、TGF β だけではなく IL-6 産生も増強されていた。以上のことから、神経伝達物質は、歯周炎局所において、圧痛の伝達コントロールだけではなく、炎症免疫機序にも影響を与えている可能性が示唆された。

侵襲性歯周炎における IL-17A/F, IL-17F, IL-17A 量の平均は、健常者に比べて、侵襲性歯周炎患者で低い値を示した。特に IL-17F は、健常者や慢性歯周炎患者に比べて、侵襲性歯周炎患者で、低い値を示した。しかしなが

ら、侵襲性歯周炎患者においてIL-17F量の高い値を示した患者が5名いた。そして、この患者は、いずれも限局性の侵襲性歯周炎であり、骨吸収はあまり進んでいなかった。IL-17FはT細胞だけでなく、自然免疫細胞や上皮細胞からも産生され、炎症応答を伴わずに自然免疫を活性化させ、細菌防御能を高めることができる。このIL-17Fの産生が、組織破壊の進行を遅らせ、破壊を限局的にしている可能性が考えられる。また、IL-17Fの低産生が侵襲性歯周炎発症へ影響を与えている可能性も示唆された。

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2件)

1) Hiromi Nanbara, Nawarat Wara-aswapati, Toshiyuki Nagasawa, Yasuhiro Yoshida, Reiko Yashiro, Yukiko Bando, Hiroaki Kobayashi, Janjura Khongcharoensuk, Doosadee Hormdee, Waranuch Pitiphat, Jason A. Boch, Yuichi Izumi. Modulation of Wnt5a expression by periodontopathic bacteria. Plos ONE, 7(4) e34434, 2012

2) Izumi Yuichi, Aoki Akira, Yamada Yuichi, Kobayashi Hiroaki, Iwata Takanori, Akizuki Tatsuya, Suda Tomonari, Nakamura Sayaka, Wara-Aswapati Nawarat, Ueda Minoru, Ishikawa I.

Current and future periodontal tissue engineering.

Periodontol 2000. 2011 Jun;56(1):166-87.

[学会発表] (計5件)

1) Kobayashi H, Haruta C, Izumi Y. A role of cannabinoid system in periodontal tissue. 4th Academy of Advanced Applied Science in Oral Medicine. 2012. 1, 21 Tokyo, Japan

2) Nanbara H, Kobayashi H, Izumi Y et al, . Wnt5a expression by *Porphyromonas gingivalis* LPS via NF- κ B and STAT1. The 10th World Congress on Inflammation. 2011. 6. 25-29. Paris, France

3) Nanbara H, Kobayashi H, Izumi Y et al, Induction of Wnt5a in THP-1 cells by periodontopathic bacteria . 88th International and American Association for Dental Research 2010, 7, Barcelona, Spain

4) Nanbara H, Kobayashi H, Izumi Y et al, *P. gingivalis* LPS induce Wnt5a via NF- κ B and STAT1 signaling pathway . 14th International Congress of Immunology 2010. 8 神戸

5) Nanbara H, Kobayashi H, Izumi Y et al, Functions of PI3K and MAPK on Wnt5a expression in THP-1. 58th Japanese Association for Dental Research 2010. 11 Kokura, Japan

[図書] (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林宏明 (KOBAYASHI HIROAKI)

東京医科歯科大学・医歯学総合研究科・助教

研究者番号：50396967

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：