

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791997

研究課題名(和文) 歯周病病態形成におけるインターロイキン33関与の解明

研究課題名(英文) Roles of interleukin-33 in gingival inflammation

研究代表者

大野 建州 (Ohno, Tst sukuni)

東京医科歯科大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：80435635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：LPS誘導性マウス歯周炎モデルにおいてIL33欠損マウスを用いてIL33の歯周炎病態誘導における役割の解析を行った。野生型マウスへの歯肉LPS注射によって歯肉内IL33mRNA発現の上昇を認めた。歯肉LPS注射によって歯肉内IL1bやTNFaのmRNA発現の上昇が認められ、IL33KOマウスでは野生型と比較してそれらが有意に高かった。また、LPS歯肉注射により誘導される歯槽骨吸収は、IL33KOマウスでは野生型マウスより有意に大きかった。これらの結果からIL33は歯周炎における早期の炎症誘導および慢性炎症によって誘導される歯槽骨吸収の両方に対して保護的に機能していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Objectives: IL-33 is involved in Th2-mediated immune responses. We investigated the roles of IL-33 in the gingival inflammation. Methods: WT and IL-33 KO mice received LPS-injection into the gingiva and gingival inflammatory responses were evaluated. Results/Discussion: LPS-injection into gingiva enhanced IL-33 mRNA expression in WT mice. LPS induced inflammatory cytokine mRNA expression levels (IL-1b and TNFa) in IL-33KO mice were higher than wild-type mice. Assessment of alveolar bone loss after LPS injection showed a greater bone loss in both mice as compared with control PBS-injected groups, but IL-33 KO mice showed a significantly higher bone loss. Our results suggest protective roles of IL-33 in early gingival inflammatory responses and chronic alveolar bone loss.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学

キーワード：IL-33 歯周炎

1. 研究開始当初の背景

IL-1サイトカインファミリーに属するIL-1 α やIL-1 β は樹状細胞、マクロファージなどの免疫担当細胞のみならず線維芽細胞や上皮細胞からも産生され、炎症性メディエーターとして、発熱、白血球増加、急性期蛋白の増加、さらには破骨細胞分化・活性化に関与し、歯周病病態形成に深く関与していることが知られている。IL-33は、IL-1 α ,IL-1 β やIL-18とともに、IL-1ファミリーに属するサイトカインであり、2005年に11番目のIL-1ファミリーサイトカインとして同定された。IL-33がTh2細胞やマスト細胞からのTh2サイトカイン産生を誘導し、Th2型免疫応答や疾患の発症にかかわることが示唆されている。また、近年、1塩基多型を用いたゲノムワイド連鎖解析によって、IL-33は喘息やアトピー性皮膚炎などのアレルギー疾患の発症との関連をもつという遺伝学的証拠が報告され、アレルギー分野での注目が非常に高い。他方、IL-33の生理作用は、Th2型免疫応答に限らず、IL-1 α ,IL-1 β やIL-18などと同様に、炎症誘導性サイトカインとして感染症や多くの慢性疾患発症に関与すると考えられているが、歯周病病態形成との関与は明らかになっていない。免疫系において、Toll様受容体(TLR)に認識される外来抗原の総称「病原体由来分子パターン(PAMPs)」に対し、「alarmin」と呼ばれる内在性因子が存在する。これは感染や障害によって細胞死が起きる際に細胞内から放出された因子のうち、炎症応答を惹起する活性をもつ分子群の総称である。その例として、high mobility group box-1(HMGB-1)がよく知られている。ヒト歯肉上皮細胞のアポトーシス、ネクローシスなどの細胞死によってHMGB-1はヒト歯肉上皮細胞から「alarmin」として放出され、歯周病病態形成に深く関与している可能性が報告されている。IL-33はごく最近まで、IL-1 β やIL-18と同じ様に、細胞が活性化されると細胞内に蓄えられ

た前駆体型(全長のIL-33)がカスパーゼ1によって切断され成熟型(分泌型)になって細胞外に分泌されると考えられていた。しかし、申請者のグループを含めた複数グループが、実際にはこのような機構ではなく、HMGB-1と同じようにIL-33は細胞壊死(ネクローシス)の際に細胞外に放出され「alarmin」として炎症を誘導することを報告した。IL-33の産生細胞としてマクロファージ、樹状細胞、マスト細胞などの免疫細胞に加え、上皮細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞や滑膜細胞などが報告されている。一方、IL-33の標的細胞としてTh2細胞、ナチュラルヘルパー細胞、マスト細胞やマクロファージを含めた多くの免疫細胞や血管内皮細胞、骨芽細胞や破骨細胞が報告されている。これらのことから、IL-33の歯周病病態形成に関わっていることが予想されるもの、その詳細は全く不明であった。

2. 研究の目的

これまでに知られていない「alarmin」IL-33に依存した歯周病病態形成機序を分子-細胞-個体レベルで明らかにすることを目的とした。具体的には、歯周組織においてどのような細胞がIL-33を産生し、どのように歯周病病態形成、特に歯肉組織の炎症および顎骨吸収に関与しているのか明らかにすることとした。

3. 研究の方法

1.歯周組織における IL-33 発現細胞の同定

歯周組織関連細胞においてどのような細胞にIL-33が発現しているか、PCR法およびELISA法を用いて解析を行った。

2.歯周病マウスモデルにおける IL-33 機能解析

歯周病マウスモデルとして凡用されているLPS誘導性歯周病マウスモデルにおいてIL-33欠損マウスを用いてIL-33の機能解析を行った。LPS誘導性歯周病マウスモデルにおけるIL-33欠損マウスの顎骨の吸収の評価を行った。LPS誘導性歯周病マウスモデルに

おける IL-33 欠損マウスの歯周組織における炎症を炎症性サイトカイン発現を指標として評価した。

4. 研究成果

C3H/He 由来扁平上皮癌細胞 NRS-1 では恒常的に IL-33 の mRNA およびタンパクレベルでの発現が認められた。また、LPS 刺激によってこれらの発現の増強が認められた。一方、無刺激および LPS 刺激を行った NRS-1 細胞培養上清中に IL-33 は検出されなかったが、細胞にネクローシスを誘導することによって IL-33 の検出が可能となった。TGC 誘導性マクロファージにおいても恒常的に IL-33 の mRNA およびタンパクレベルでの発現が認められ、無刺激および LPS 刺激を行った TGC マクロファージ培養上清中に IL-33 は検出されなかったが、細胞にネクローシスを誘導することによって IL-33 の検出が可能となった。これらの結果から、口腔組織において、上皮細胞およびマクロファージが IL-33 産生細胞として機能していることが示唆された。また口腔組織関連上皮細胞においても、IL-33 がネクローシスの誘導によって細胞外に放出されることから、IL-33 が歯周組織において「alarmin」として炎症を誘導する可能性が示唆された。

野生型マウスへの歯肉 LPS 注射によって歯肉内 IL33 mRNA 発現の上昇を認めた。歯肉 LPS 注射によって歯肉内 IL1b や TNF α とともに IL-33 の mRNA 発現の上昇が認められた。IL33KO マウスでは野生型と比較して IL1b や TNF α mRNA 発現が有意に高かった(図 1)。

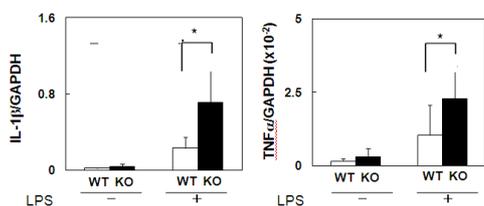


図 1

また、LPS 歯肉注射により誘導される歯槽骨吸収は、野生型および IL-33KO マウスでも認められたが、IL33KO マウスでは野生型マウスよりそれが有意に大きかった(図 2)。

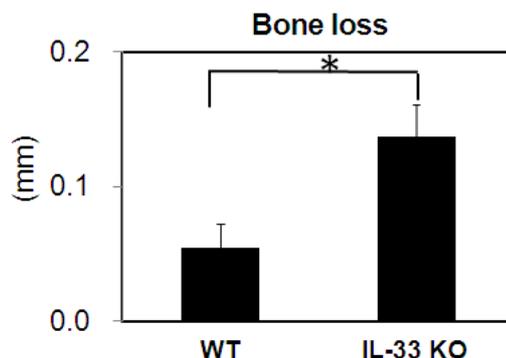


図 2

これらの結果から IL33 は歯周炎における早期の炎症誘導および慢性炎症によって誘導される歯槽骨吸収の両方に対して保護的に機能していることが示唆された。

5. 主な発表論文

(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7件)

Role of IL-25 and IL-33 in allergic diseases. Morita H, Unno H, Arae K, Ohno T, Saito H, Matsumoto K, Nakae S. *Alerugi*. 2013 Aug;62(8):924-35. 査読あり

IL-33-mediated innate response and adaptive immune cells contribute to maximum responses of protease allergen-induced allergic airway inflammation. Kamijo S, Takeda H, Tokura T, Suzuki M, Inui K, Hara M, Matsuda H, Matsuda A, Oboki K, Ohno T, Saito H, Nakae S, Sudo K, Suto H, Ichikawa S, Ogawa H, Okumura K, Takai T. *J Immunol*. 2013 May 1;190(9):4489-99. 査読あり

Galectin-9 enhances cytokine secretion, but suppresses survival and degranulation, in human mast cell line. Kojima R, Ohno T, Iikura M, Niki T, Hirashima M, Iwaya K,

Tsuda H, Nonoyama S, Matsuda A, Saito H, Matsumoto K, Nakae S. PLoS One. 2014 Jan 20;9(1):e86106. 査読あり

Role of interleukin-33 in innate-type immune cells in allergy. Nakae S, Morita H, Ohno T, Arae K, Matsumoto K, Saito H. Allergol Int. 2013 Mar;62(1):13-20. 査読あり

Epithelial cell-derived IL-25, but not Th17 cell-derived IL-17 or IL-17F, is crucial for murine asthma. Suzukawa M, Morita H, Nambu A, Arae K, Shimura E, Shibui A, Yamaguchi S, Suzukawa K, Nakanishi W, Oboki K, Kajiwara N, Ohno T, Ishii A, Körner H, Cua DJ, Suto H, Yoshimoto T, Iwakura Y, Yamasoba T, Ohta K, Sudo K, Saito H, Okumura K, Broide DH, Matsumoto K, Nakae S. 査読あり

J Immunol. 2012 Oct 1;189(7):3641-52.

Interleukin-33 in allergy. Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Allergy. 2012 Oct;67(10):1203-14. 査読あり

ST2 requires Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice. Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwara N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K, Nakae S.

Allergol Int. 2012 Jun;61(2):265-73. 査読あり

〔学会発表〕(計2件)

マウス LPS 誘導歯周炎における IL-33 の関与. 大野建州、前川祥吾、和泉雄一、東みゆき. 第54回歯科基礎医学会学術大会・総会 2012年9月14 - 16日. 郡山

Dual Roles of Interleukin-33 in LPS-induced Acute and Chronic Gingival Inflammation. Tatsukuni Ohno, Chenyang Zhang, Shogo

Maekawa, Miyuki Azuma. 2nd Meeting of IADR-APR. 2013.8.21-23. Bangkok.

〔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
大野 建州 (OHNO Tatsukuni)
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：80435635

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：