

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20670

研究課題名(和文)炎症メディエーターHMGB1の歯周炎における機能解明

研究課題名(英文)Functional analysis of HMGB1 as an inflammatory mediator in periodontitis

研究代表者

山城 圭介(YAMASHIRO, KEISUKE)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：30581087

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：High mobility group box 1(HMGB1)は、DNA結合タンパク質であるが、組織の損傷や壊死によって細胞外へ分泌された場合、炎症メディエーターとして機能する。HMGB1が歯周炎の進行にどのように影響を及ぼすか、その詳細なメカニズムは未だ明らかになっていない。本研究の結果、炎症刺激により歯肉上皮細胞、マクロファージ様細胞からHMGB1が産生されることが明らかとなった。また、歯周炎モデルマウスに抗HMGB1抗体を投与することで、歯周炎による炎症は抑制される。その結果、好中球の遊走、IL-1の産生などが抑制され、歯周炎による骨吸収が抑制されることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：High mobility group box 1(HMGB1) is a DNA binding protein, but it plays as an inflammatory mediator when it is secreted extracellularly due to tissue damage or necrosis. The detailed mechanism of how HMGB1 affects the progress of periodontitis has not been elucidated. As a result of this study, it was revealed that HMGB1 was produced from gingival epithelial cells, macrophage-like cells by inflammatory stimulation. In addition, by administering anti-HMGB1 antibody to periodontitis model mice, inflammation due to periodontitis is suppressed. As a result, migration of neutrophils, production of IL-1 were suppressed and the bone resorption by periodontitis was suppressed.

研究分野：歯周病学

キーワード：炎症 歯周病 サイトカイン HMGB1 マクロファージ 歯肉上皮細胞 好中球

1. 研究開始当初の背景

High mobility group box 1 (HMGB1) は核内タンパク質であり転写の制御に関わっている。しかし細胞に炎症刺激が加わることで、HMGB1 は細胞外に分泌され、分泌された HMGB1 は炎症メディエーターとして働くことが知られている。近年、敗血症や外傷性脳障害などの急性炎症の増悪因子として HMGB1 は脚光を浴びようになってきた。その機能を阻害する中和抗体が治療薬として応用が期待されており、研究が進んでいる。慢性炎症にも HMGB1 が関与することは方向されているが、歯周炎との関わりは明らかでない。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の2つに分けられる。

(1) 培養細胞を用いた HMGB1 の発現動態の検討

歯肉上皮細胞、マクロファージ様細胞などの培養細胞を用いて HMGB1 の発現動態を調べる。分泌された HMGB1 が他のサイトカインの発現を促すことが考えられるが、中和抗体を投与することにより、これらの発現が減少するのか検討する。

(2) 歯周炎モデルマウスにおける中和抗体の効果の検討

歯周炎モデルマウスを作成し、中和抗体投与により歯周炎の進行が抑制されるのか検討する。

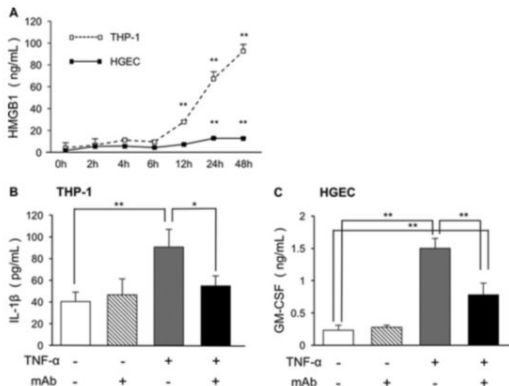
3. 研究の方法

(1) 培養細胞 (歯肉上皮細胞、マクロファージ様細胞) を用いて、炎症刺激時に HMGB1 が分泌されるのか、また中和抗体を投与することにより、その分泌が抑制されるのか検討する。

(2) 歯周炎モデルマウスに中和抗体を投与し、歯周炎の進行が抑制されるのか検討する。

4. 研究成果

(1) 培養細胞を用いた実験から、炎症刺激により上記細胞から HMGB1 が分泌されるが、中和抗体投与により分泌は抑制された。



(2) 健常群では HMGB1 は歯肉上皮の核内に局在した (図1G)。歯周炎が生じると HMGB1 は核外へ移行するが (図1H)、抗体投与により濃度依存的に核内へ局在する割合が増加した (図1I, J)。

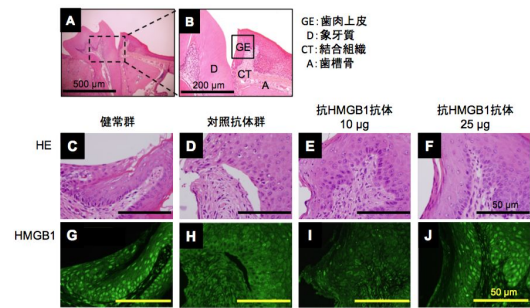


図1 抗体HMGB1抗体投与によるHMGB1核外移行の抑制

(3) 抗 HMGB1 抗体投与による炎症抑制
対照抗体群で歯周炎による強い炎症反応が見られた (図2B, F)。抗 HMGB1 抗体投与で濃度依存的に炎症は抑制された (図2C, D, G, H)。

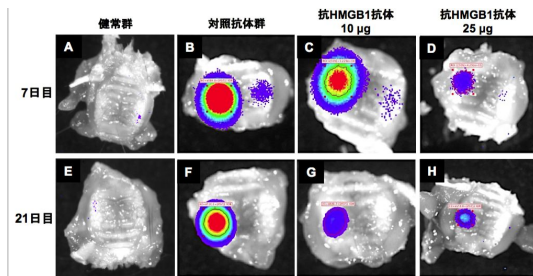


図2 抗HMGB1抗体投与による炎症抑制

(4) 抗 HMGB1 抗体投与による好中球集積と骨吸収の抑制

対照抗体群では著しい好中球の集積が見られたが、抗 HMGB1 抗体投与により濃度依存的に集積数は減少した (図3A)。対照抗体群では歯槽骨量が減少したが、抗 HMGB1 抗体投与により濃度依存的に減少量は低下した (図3B)。

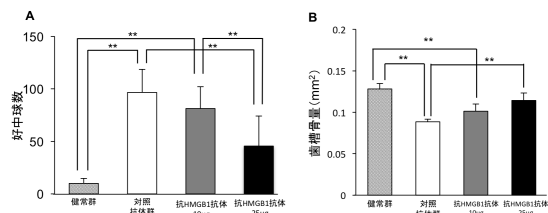


図3 抗HMGB1抗体投与による好中球集積と骨吸収の抑制

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) 論文名: Anti-HMGB1 neutralizing antibody attenuates periodontal inflammation and bone

resorption in a murine periodontitis model

掲載誌: Infection and Immunity

著者: Chiaki Yoshihara-Hirata, Keisuke Yamashiro, Tadashi Yamamoto, Hiroaki Aoyagi, Hidetaka Ideguchi, Mari Kawamura, Risa Suzuki, Mitsuaki Ono, Hidenori Wake, Masahiro Nishibori, Shogo Takashiba. 2018 Apr 23;86(5). pii: e00111-18. DOI: 10.1128/IAI.00111-18. (査読あり)

(2) 論文名: HMGB1-induced inflammatory response promotes bone healing in murine tooth extraction socket.

掲載誌: Journal of Cellular Biochemistry

著者: Hiroaki Aoyagi, Keisuke Yamashiro, Chiaki-Hirata Yoshihara, Hidetaka Ideguchi, Mutsuyo Yamasaki, Mari Kawamura, Tadashi Yamamoto, Shinsuke Kochi, Hidenori Wake, Masahiro Nishibori, Shogo Takashiba. 2018 Jul;119(7):5481-5490. DOI:10.1002/jcb.26710. (査読あり)

(学会発表)(計 7件)

[2017年]

(1) 炎症性メディエーターHMGB1が歯槽骨治癒における血管新生の遺伝子発現を促進する, 青柳浩明, 山城圭介, 吉原千暁, 井手口英隆, 山本直史, 河村麻理, 下江正幸, 本郷昌一, 劉克約, 西堀正洋, 高柴正悟, 第38回炎症再生医学会, 2017年7月, 大阪. 【優秀演題賞受賞】

(2) HMGB1が歯槽骨治癒に及ぼす影響, 青柳浩明, 山城圭介, 吉原千暁, 井手口英隆, 山本直史, 河村麻理, 下江正幸, 高柴正悟, 第60回日本歯周病学会, 2017年5月, 福岡. 【優秀発表賞受賞】

[2016年]

(3) 炎症マーカーを標的とした分子イメージングによる歯周組織の新規検査法の確立に向けた臨床的/基礎的研究. 井手口英隆, 山城圭介, 青柳浩明, 山本直史, 下江正幸, 高柴正悟. 第9回日本口腔検査学会学術大会, 2016年10月, 福島.

(4) HMGB1が抜歯窩組織における炎症と血管新生に及ぼす影響. 青柳浩明, 山城圭介, 吉原千暁, 井手口英隆, 山本直史, 河村麻理, 下江正幸, 本郷昌一, 劉克約, 西堀正洋, 高柴正悟. 第37回炎症再生医学会, 2016年6月, 京都.

(5) Anti-HMGB1 neutralizing antibody attenuates cytokine secretion and progression of periodontitis. C. Yoshihara, K. Yamashiro, T. Yamamoto, H. Ideguchi, H. Aoyagi, M. Shimoe, S. Hongo, M. Kawamura, K. Liu, M. Nishibori, S. Takashiba. 2016 IADR/APR General Session & Exhibition, 2016年6月, Seoul, Korea. 【学術奨励賞受賞】

(6) Effects of zoledronic acid in periodontitis by molecular imaging. H. Ideguchi, K. Yamashiro, T. Yamamoto, M. Shimoe, S. Hongo, C. Yoshihara, H. Aoyagi, M. Kawamura, S. Takashiba. 2016 IADR/APR General Session & Exhibition, 2016年6月, Seoul, Korea.

(7) 実験的歯周炎モデルマウスにおける抗HMGB1抗体の歯周炎抑制効果, 吉原千暁, 山城圭介, 山本直史, 井手口英隆, 青柳浩明, 下江正幸, 本郷昌一, 河村麻理, 高柴正悟, 第59回春季日本歯周病学会, 2016年5月, 鹿児島.

(その他)

ホームページ等

(1) プレスリリース(岡山大学)
歯周炎進行のメカニズムの一端を解明～歯周炎による骨吸収が抗HMGB1抗体投与により抑制～
https://www.okayama-u.ac.jp/tp/release/release_id529.html

(2) プレスリリース(岡山大学)
抜歯後の骨治癒を促進し炎症反応を制御する分子を発見
https://www.okayama-u.ac.jp/tp/release/release_id530.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

山城圭介(YAMASHIRO, Keisuke)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号:30581087

(2)研究協力者

青柳浩明(AOYAGI, Hiroaki)
岡山大学・大学病院・医員
研究者番号:10814501

井手口英隆(IDEGUCHI, Hidetaka)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号:80779421

高知信介(KOCHI, Shinsuke)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教
研究者番号:70803138

山本直史(YAMAMOTO, Tadashi)
岡山大学・大学病院・講師
研究者番号:50432662

高柴正悟 (TAKASHIBA, Shogo)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 50226768

和氣秀徳 (WAKE, Hidenori)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・講師
研究者番号: 60570520

西堀正洋 (NISHIBORI, Masahiro)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 50135943