

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462834

研究課題名(和文) インターロイキン33による新しい歯周炎病態形成抑制機構

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

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* (P.g) 誘導性マウス歯周炎モデルにおいて IL-33 欠損マウスを用いて、IL-33 の歯周炎病態誘導における役割の解析を行った。野生型マウスの歯肉組織へ P.g を投与すると、歯肉中の IL-33 発現が IL-1b や TNF $\alpha$  発現とともに増強された。また IL-33 欠損マウスでは歯肉組織への P.g 投与による IL-1b や TNF- $\alpha$  発現誘導が、野生型と比較して増強されていた。これらの結果から、歯周病病態誘導に保護的に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-33 (IL-33), which is a new member of the IL-1 family of cytokines, has been involved in Th2-mediated immune responses including host defense against nematode and allergic diseases. Unlike regular cytokines, IL-33 is released from necrotic damaged cells during tissue injury and acts as an alarmin. Thus, IL-33 may contribute to chronic inflammatory tissue diseases. In this study, we investigate the roles of IL-33 in the gingival inflammation. Wild-type and IL-33 knockout (KO) mice received *Porphyromonas gingivalis* (P.g) -injection into the molar gingiva and gingival inflammatory responses were evaluated. LPS-injection into gingiva enhanced IL-1b, TNF- $\alpha$ , and IL-33 mRNA expression in wild type mice, but not in IL-33 KO mice. Our results suggest dual roles of IL-33; protective role in early gingival inflammatory responses.

研究分野：免疫学

キーワード：IL-33 歯周炎 マウスモデル

## 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 $\alpha$ やIL-1 $\beta$ 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、急性期タンパクの増加、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 $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ 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 $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ 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 (HMGB1) 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 $\beta$ 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、申請者ら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、HMGB1と同じように生理活性のある全長IL-33が細胞壊死 (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。

また、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。これらの様々な細胞に対してIL-33は炎症性サイトカイン産生を誘導する一方で、歯周組織におけるIL-33発現は明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

これまでに知られていないIL-33依存的な歯周病病態形成機序を明らかにすることを目的とした。具体的には、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である。

## 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を参考に、歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* (P.g) 死菌を歯肉に投与し炎症を誘導する歯周炎あるいは歯肉炎モデルを作製し、Pg 誘導性歯肉炎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 SCCVII 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 SCCVII 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。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。

また、長期の P.g 歯肉注射により歯槽骨吸収は、野生型および IL-33KO マウスともに認められなかった。

野生型マウスへの P.g 歯肉内注射によって歯肉内 IL33 mRNA 発現の上昇を認めた(図 1)。

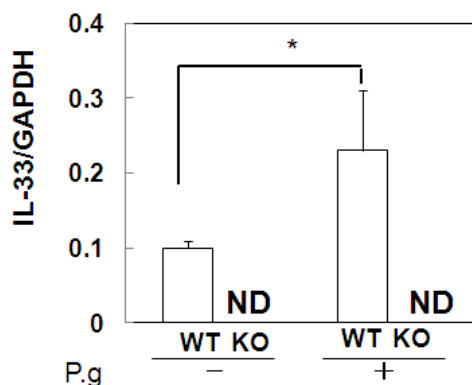


図 1

P.g 歯肉内注射によって歯肉内 IL1b や TNFa 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 TNFa mRNA 発現が有意に高か

った(図 2)。

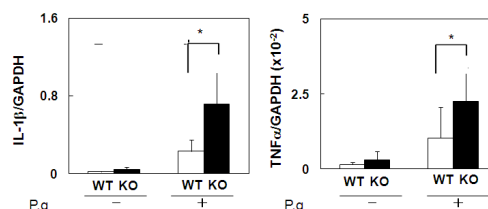


図 2

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)

Morita H, Arae K, Unno H, Miyauchi K, Toyama S, Nambu A, Oboki K, Ohno T, Motomura K, Matsuda A, Yamaguchi S, Narushima S, Kajiwara N, Iikura M, Suto H, McKenzie AN, Takahashi T, Karasuyama H, Okumura K, Azuma M, Moro K, Akdis CA, Galli SJ, Koyasu S, Kubo M, Sudo K, Saito H, Matsumoto K, Nakae S.

An Interleukin-33-Mast Cell-Interleukin-2 Axis Suppresses Papain-Induced Allergic Inflammation by Promoting Regulatory T Cell Numbers. *Immunity*, 査読あり 2015,21;43(1):175-86. doi:

10.1016/j.immuni.2015.06.021.

〔学会発表〕(計 1 件)

西井 直人、ビンガレ アルンダティ、近藤 雄太、大野 建州、東 みゆき. 抗腫瘍免疫応答における内在性あるいは外来性 IL-13 の関与. 第 74 回日本癌学会 2015. 10.08, 名古屋国際会議場、愛知県名古屋市〔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 (Tatsukuni, Ohno)

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：

##### (4) 研究協力者

( )