

令和 4 年 6 月 29 日現在

機関番号：82681

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10135

研究課題名(和文) 血清中IL-1受容体補助タンパク濃度を用いた新規歯周病病態マーカーの開発

研究課題名(英文) Development of a potential new marker of periodontal disease status based on serum IL-1 receptor accessory protein .

研究代表者

石原 裕一 (Ishihara, Yuichi)

公益財団法人ライオン歯科衛生研究所(研究部研究開発室)・研究部研究開発室・研究開発室長

研究者番号：50261011

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)：局所の炎症性骨吸収に直接働くインターロイキン-1(IL-1)は歯周病の発症と進行に深く関与している。歯周炎患者の歯周組織や歯肉溝浸出液中においてIL-1は高濃度で検出されるが、末梢血清中ではほぼ検出限界以下である。一方、血清IL-1受容体補助タンパク質(sIL-1RAcP)は健康者血清中で検出されることが報告された。そこで、歯周病患者血清中のIL-1RAcP濃度と歯周病病態との関連性を統計学的に解析したところ、sIL-1RAcP濃度は歯周病患者では健康被験者に比べて有意に高く、メンテナンス患者では健康被験者と同程度に低下することを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国民病ともいえる歯周病は、歯科医による詳細な口の検査とエックス線を利用しなければ歯周炎の程度がわからないのが現状である。そこで肝臓で作られ、血液中に存在するインターロイキン-1受容体補助タンパク質濃度に着目し、歯周病を有する人ではその濃度が高く、有しない人や歯周病がコントロールされている人では濃度が低いことが明らかとなった。したがって、このタンパク質を健康診断で測定できれば、歯周病の発症の有無とその程度を簡単に把握できるようになる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Interleukin-1 (IL-1), which acts directly on local inflammatory bone resorption, is closely involved in the development and progression of periodontal disease. IL-1 is detected at high levels in periodontal tissues and gingival crevicular fluid from patients with periodontitis, but is almost undetectable in peripheral blood serum. On the other hand, serum IL-1 receptor accessory protein (sIL-1RAcP) was reported to be detectable in the serum of healthy subjects. Therefore, we statistically analyzed the relationship between IL-1RAcP concentration in periodontal patient serum and periodontal pathology, and found that sIL-1RAcP concentration was significantly higher in periodontal patients than in healthy subjects, and decreased to the same level as that in healthy subjects in maintenance patients.

研究分野：歯周病学

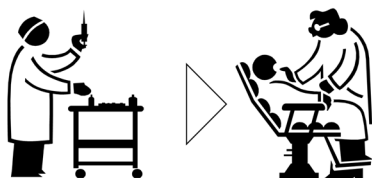
キーワード：歯周病 IL-1 sIL-1RAcP 血清マーカー

1. 研究開始当初の背景

医科歯科連携は重要なテーマであるが、内科医らが患者の歯周病の有無や程度を簡単に把握できる検査がないのが現状である。本課題と同様に、末梢血清に着目したこれまでの報告によると重度歯周炎患者は健常者と比較して、血清中 CRP、IL-6 が上昇し、高フィブリノゲン血症、中程度の白血球増加症が認められた(Kweider ら 1993; Ebersole ら、1997; Loos ら、2000; Slade ら、2000、2003; Hutter ら、2001)。また歯周病治療介入により血清中 IL-6 と高感度 CRP の低下は 60%以上の歯周病患者に観察されたと報告されている(J Dent Res 83:156-160,2004)がその値の差は非常に小さかった。歯周病患者を 5 年間のフォローアップしたところ、血清マーカーとしての LPS 結合タンパク質、IL-6、IL-8 に変化はなかったが、ベースライン時と 60 ヶ月後で侵襲性歯周炎患者の好中球エラスターゼと CRP 値は慢性歯周炎より有意に高かった(Clinical Oral Investigations <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2398-x>)。糖尿病を有する歯周病患者では血清中の可溶性最終糖化産物受容体と TNF- α の増加が報告されている(Journal of Oral Science, Vol. 58, No. 4, 547-553, 2016)。CRP や IL-6 はおもに肝臓マクロファージや脂肪細胞、動脈硬化では血管の炎症に伴い、産生されるために基礎疾患としての糖尿病や動脈硬化を有する歯周病患者や重度に進行した歯周病患者にとってはマーカーとなりえても、歯周病のリスクを評価することや軽度な歯周炎患者のスクリーニングには不向きであると考えられる。歯肉溝浸出液中のサイトカイン濃度は血清に比べはるかに高濃度であるが、サンプル採取は歯科医療機関に限定されることや、初診時以外は極端にその採取量が減少し、部位特異性があるため、口腔内を観察して被験歯を選択するなど、歯科医療従事者でないと難しい。歯周組織検査から PISA*(periodontal inflamed surface area、歯周組織の炎症表面エリア)値を算出すると 1 つの数値として歯周炎の程度を歯科から医科に伝えることが可能となり、その有用性が検証されているがこれも歯数の影響を強く受ける。できれば採血という歯科以外の医療機関においても簡単なサンプル採取し、歯周病病態を反映するマーカーが求められていると考えられる。

局所の炎症性骨吸収に直接働くインターロイキン-1 (IL-1)は歯周病の発症と進行に深く関与し、そのシグナル伝達には IL-1 タイプ 1 受容体 (IL-1R1) とタイプ 2 受容体 (IL-1RII) の 2 種類が存在し、IL-1R1 は IL-1 が結合すると、細胞膜に存在する IL-1 受容体補助タンパク質

血清中IL-1RAcPを利用した医科歯科連携の可能性



医科 (血液検査) にて、歯周病のスクリーニングを行い、疑わしい者に対し、歯科 (歯周組織検査) にて精密検査を行う。

(IL-1RAcP) と会合し、Toll/IL-1R ドメイン (TIR ドメイン) を介してシグナルを伝達する。一方、IL-1RII は IL-1 が結合すると、IL-1RAcP と会合するものの、細胞内領域が極めて短いためにシグナルを伝達せず、IL-1 の活性調節を行うデコイレセプターと知られている。Smith らは健常者の血清中可溶性 IL-1RII と IL-1RAcP および IL-1 を調べたところ、血清中の可溶性 IL-1RAcP (sIL-1RAcP) は数百 pg/ml の濃度で検出されることとその検出範囲が健常者

の間でもかなり広いこととリウマチ患者ではその血清中濃度が上昇することが報告されている。

2. 研究の目的

歯周病患者の血清中の sIL-1RAcP 濃度が歯周病疾患マーカーになりうるかどうかを検討するために、歯周病患者血清中 sIL-1RAcP 濃度と歯周病病態との関連を調べることを目的に研究を実施した。

3. 研究の方法

被験者

愛知学院大学歯学部附属病院歯周病科を受診した慢性歯周炎患者 67 名 (男性 24 名、女性 43 名、平均年齢 55.8 ± 1.8 歳)、SPT 患者 60 名 (男性 21 名、女性 39 名、平均年齢 61.5 ± 1.3 歳) および附属病院職員の中で歯周組織健常者 (男性 33 名、女性 26 名、平均年齢 37.3 ± 1.3 歳) を対象とした。参加前に、すべての患者に研究目的と方法を十分に説明し、ヘルシンキ宣言に基づき、すべての患者が書面によるインフォームドコンセントを行った。患者の募集は 2010 年に開始され、2011 年末までに完了した。研究計画は愛知学院大学歯学部倫理委員会 (承認番号 47) により承認された。

対象・除外基準

すべての患者から全身的と口腔内既往歴を聴取した。以下の患者を除外した。1) 糖尿病, 免疫疾患, 全身疾患の既往を含む重篤な疾患, 2) 過去 6 ヶ月以内に抗生物質を受けている場合, 4) 妊婦, 5) 1 日 10 本以上のタバコを吸っている場合。

プロービングデプス(PPD)、クリニカルアタッチメントレベル(CAL)、ブリーディングオンプロービング(BOP)を、歯周プローブ(CPUNC-15, Hu-Friedy, Chicago, IL.)を用いて6点法にて現在歯すべてに行った。

被験者の分類

慢性歯周炎患者(CP)群：歯周病の発症年齢が35歳以上で4mm以上のCALが1部位でも認められた被験者

歯周病安定期患者(SPT)群：歯周治療終了後、6か月以上経過した時の歯周組織検査で4mm以上のPDが8カ所以内の被験者。

歯周組織健全者(H)群：現在歯すべてのCALが3mm以下の被験者。

sIL-1RAcP と高感度 CRP(hs-CRP) の測定

末梢血を上腕正中皮静脈から採取し、通常の遠心分離により血清を採取した。sIL-1RACP 濃度は Human IL-1 RAcP/IL-1 R3 ELISA kit (R&D systems Minneapolis, MN)、hs-CRP 濃度はラテックス凝固ネフェロメトリー法により測定した。

統計処理

歯周病の有無と sIL-1RACP 濃度との関係性を評価するために、CP 群と H 群の 2 項目を独立変数として、Kruskal-Wallis と Tukey-Kramer 's test を行い、 $P=0.01$ を有意水準とした。sIL-1RACP と hs-CRP 濃度と PPD 4mm、CAL 4mm、および BOP との関連については Spearman 's correlating test を行った。統計には SPSS version 22.0 software (IBM Inc., Chicago, IL) を用いた。

4. 研究成果

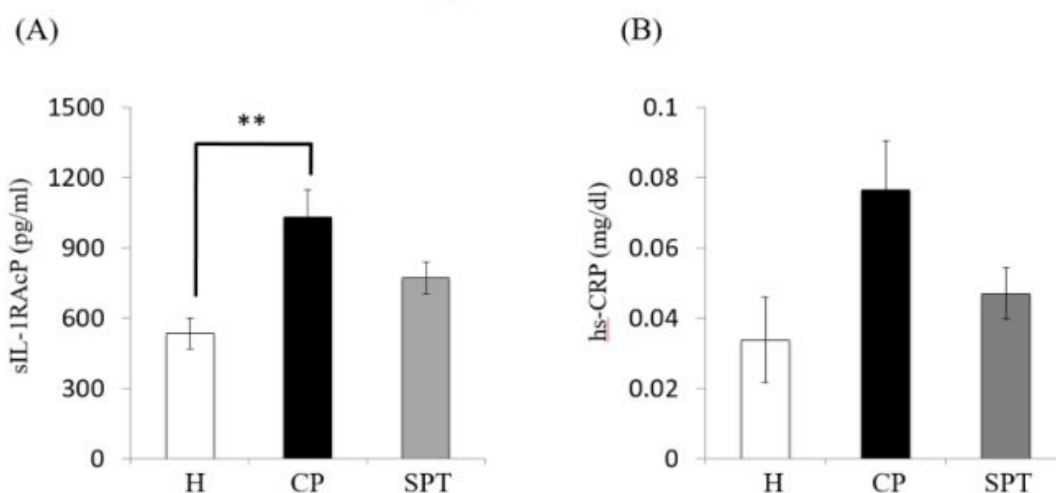
表. 1 被験者の初診時歯周病所見

	H (N=59)	CP (N=67)	SPT (N=60)	H vs CP	H vs SPT	CP vs SPT
年齢	37.3±1.3	55.8±1.8	61.5±1.3	<0.01	<0.01	ns
性別(女性%)	44.1	64.2	65	ns	ns	ns
PPD≥4mm(%)	1.1±0.2	34.2±2.4	6.6±1.3	<0.01	ns	<0.01
CAL≥4mm(%)	2.1±0.4	44.8±2.9	39.1±3.3	<0.01	<0.01	ns
BOP [†] (%)	8.4±1.3	35.8±2.6	5.7±1.3	<0.01	ns	<0.01

被験者群間で性別に違いはなかったが、H 群は CP 群 SPT 群に比べ有意に年齢が低かった。CP 群の 4 mm 以上 PPD 率は、SPT 群および H 群に比べ、有意に高い値を示した。H 群の 4 mm 以上 CAL 率は CP 群、SPT 群に比べ有意に低い値を示したが、CP 群と SPT 群の間には有意差は認められなかった。CP 群の平均 BOP 率は、H 群および SPT 群に比べ、有意に高い値を示した。(表 1)

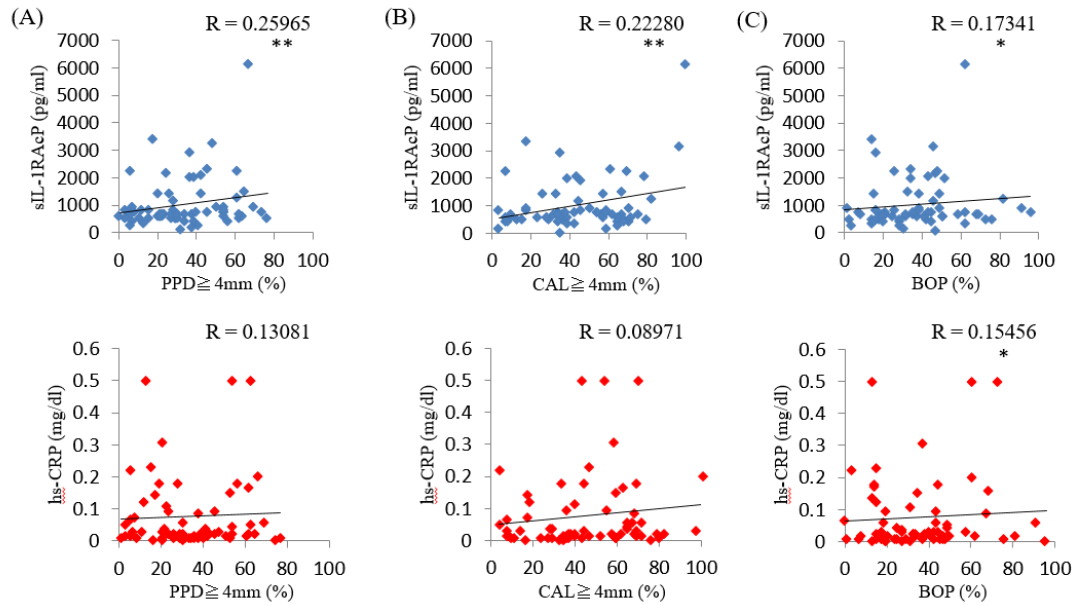
H 群に比べ、CP 群の sIL-RACP 濃度は有意に高かった** $p < 0.01$ 。H 群と SPT 群、CP 群と SPT 群の間では sIL-RACP 濃度に有意差は認められなかった。(図 1 A)hs-CRP 濃度は、CP 群が H 群、SPT 群より高い傾向は示したが、有意差は観察されなかった。(図 1 B)

図1被験者間でのsIL-1RACPとhs-CRP濃度の比較



sIL-1RACP と hs-CRP は 4 mm 以上 PPD 率、4 mm 以上 CAL 率および BOP 率と強い相関は認められなかった。しかし、sIL-1RACP の方が hs-CRP に比べわずかに相関係数が高く、sIL-1RACP と 4 mm 以上 PPD 率、4 mm 以上 CAL 率および BOP 率の間で相関係数の有意性が観察された。hs-CRP においては BOP 率の間で相関係数の有意性が観察された(図 2 A, B)

図2 sIL-1RAcP と高感度CRP 値 と歯周病検査値との相関。



関節リウマチ患者と健常者の関係と同様に、CP 群では H 群と比較して血清中 sIL-1RAcP 濃度が高いことが明らかとなり (図 1)。血清 sIL-1RAcP は歯周組織の炎症に対して高い陽性予知能力を有していると考えられた。血清 sIL-1RAcP 値は H 群より CP 群で高く、血清 hs-CRP 値は全群で有意差はなかった (図 1)。さらに、sIL-1RAcP 値とすべての歯周病臨床検査データとの間には、有意に弱い正の相関が検出された (図 2)。

今回の結果のみでは CP 群にて sIL-1RAcP 産生上昇が起きた理由は分からないが、炎症は感染だけでなく代謝にも関与することが近年報告されており、糖尿病と関与する肥満では脂肪細胞が軽微な炎症によるエピジェネティックな修飾を受け、DNA メチル化をともなう炎症性サイトカインの産生亢進に関与することが明らかとなっている (<https://doi.org/10.1111/sji.12723>)。抗炎症性サイトカインである IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra) 発現レベルは、肥満において高度に上昇し、それに続く全身性炎症に対抗する。しかし、IL-1Ra レベルは実際にはインスリン抵抗性と相関しており、肥満マウスでは IL-1Ra 濃度を半減させることで肝臓におけるインスリン感受性が向上したことが報告されている (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107487>)。今回の CP 患者での sIL-1RAcP アップレギュレーションには口腔局所の炎症と患者の生活習慣に関連するエピジェネティックな影響があるのではないかと考えられた。

現在、IL-1RAcP は 4 つのアイソフォームが同定されており、膜型 IL-1RAcP は、IL-1、IL-33、IL-36、および FLT3 と C - Kit の受容体を介したシグナル伝達に関与している。IL-1RAcP のさまざまなアイソフォームとその多型が、肥満、子宮内膜症、子癇前症、神経変性疾患などのさまざまな疾患の病態生理に関与し、正常組織での低発現と比較して、炎症性疾患での IL-1RAcP の高発現を考慮すると、IL-1RAcP には、炎症をコントロールするための治療標的になりうる可能性が示唆された。今後は慢性歯周炎患者だけでなく、高齢者や歯周病が併存症となる様々な全身疾患を有する患者を被験者として病態との関連をさらに検討することやモデル実験を計画実施することにより歯周病での sIL-1RAcP 産生亢進メカニズムを考察したいと考えている。

そして適切なエンドポイントを設定できれば、歯科と医科との連携がより簡便に行えるようになり医科診療施設における歯周病患者のスクリーニングや、集団検診に導入でき、ビッグデータをもとに歯周病と全身疾患の関連性を詳細に解析する手段の一つになりうる点が研究の創造性につながると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	小出 雅則 (Koide Masanori) (10367617)	松本歯科大学・総合歯科医学研究所・准教授 (33602)	
研究分担者	吉成 伸夫 (Yoshinari Nobuo) (20231699)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	
研究分担者	中本 哲自 (Nakamoto Tetsuji) (30514989)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	田口 明 (Taguchi Akira) (70243582)	松本歯科大学・歯学部・教授 (33602)	

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