

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 5 月 12 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20791608

研究課題名（和文） Th17免疫細胞を主軸とした歯周炎進行機序に関する研究

研究課題名（英文） Mechanism of periodontal tissue destruction caused by Th17 axis.

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）：歯周炎は歯周病原細菌の感染に伴い炎症破壊が進行する。近年、Th17細胞が報告され、このTh17細胞はIL-23により分化増殖し破骨細胞の活性化を促進することが報告された。そこで、本研究では歯周炎患者末梢血より単核球を採取し、歯周病原細菌にて刺激しIL-23産生量を測定し検討した。しかしながら、そのIL-23産生量と歯周炎の破壊度には関係がみられなかったことから、固体の持つIL-23産生能力は、歯周疾患の進行には直接関与していない可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Periodontitis is an inflammatory disease caused by periodontopathic bacteria. The aim of this study was to clarify whether IL-23 production is correlated with periodontal tissue destruction. But, there was no correlation between IL-23 production from periodontitis patients monocytes and clinical parameters. As the severity of periodontitis was not correlated with IL-23 production, individual diversity in IL-23 might not affect the susceptibility of periodontitis directly.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：歯周免疫機能学

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。歯ぐきが腫れる、骨が溶ける、といった歯周炎での病態は、細菌に対する個体の免疫応答による炎症から引き起こされる。現在までに、歯周疾患の進行、感受性は個体の免疫応答に大きく依存していることが明らかとなってきた。ヒトの免疫応答には様々なものがある。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。Th1 は細胞性免疫を誘導し、Th2 は体液性免疫を誘導する。細胞性免疫はマクロファージを活性化させ貪食による異物排除を行い、体液性免疫は抗体産生による防御を行う。これらの Th1/Th2 免疫のバランスは、個体によって、その反応バランスが異なることが判明しており、申請者らは歯周炎患者においても、歯周病原細菌刺激に対する反応が、Th1/Th2 のどちらかに偏り、歯周病原細菌に対して細胞性免疫に傾く個体、体液性免疫に傾く個体が存在することを報告している。そして、免疫のシステムバランスに偏りがあるが、その偏りと歯周ポケット深さや歯槽骨吸収の度合いには有意な差は見られなかったことも報告している(小林ら 2000)。また、新たな Treg という抑制性 T 細胞群の関しても、その存在と歯周炎進行には明確な関わりはあまり報告されていない。しかしながら、近年、Th17 という新しい T 細胞群が報告された。これは、IL-17 を産生する T 細胞群で、Th1 や Th2 と異なる。そして、この Th17 が骨吸収に関して重要な役割を担っていることが当大学の高柳らによって報告された(高柳ら 2006)。

つまり、歯周組織において、Th17 細胞が産生する IL-17 が歯肉線維芽細胞等に作用し RANKL を発現させ、そして骨吸収を引き起こすという新しい病態理論が考えられたのである。Th17 細胞群への分化へは、TGF- β と IL-6 あるいは IL-1 のシグナルにより STAT3 が活性化されることが重要であり、これにより Th17 分化に必須の転写因子である ROR γ t が誘導される。さらに、ROR γ t は Th17 細胞上に IL-23 レセプターの発現を誘導し、Th17 細胞の生存や機能維持に重要である IL-23 に反応できるようになる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、Th17 細胞群がどのような歯周病原細菌因子によって分化誘導されるのかを明らかにし、また、歯周病原性刺激によって Th17 分化に必須の ROR γ t 転写因子がどのように変動するのかを検討する。そして、その Th17 分化増殖において個体差があるのかどうかを研究する。さらに、Th17 誘導増殖能に個体差があるのならば、その差が疾患の進行にどの程度関与しているのかを比較検討する。

3. 研究の方法

Th1/Th2 のバランス同様、Th17 細胞への分化能は個体により異なっていると考えられる。そこで、Th17 細胞分化への個体差と歯周疾患進行度を比較検討した。被験者には口頭及び文書により研究内容について説明し、自由意志に基づく同意を受けた後、研究に参加していただいた。年齢を合わせた慢性歯周炎患者 40 名を被験者とした。静脈から採血を行い、Lymphoprep を用いて単核球を分離した。得ら

れた単核球は、細胞数を揃え、RPMI1640 培地にて培養を行う。*Porphyromonas gingivalis* LPS, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* LPS, *E coli* LPS, CpG ODN (ODN2006, Hycult biotechnology)を歯周病原細菌因子として刺激に用い、培養 48 時間後に単核球細胞を回収した。上清中の IL-17 産生量及び IL-23 産生量を ELISA kit にて測定した。

被験者には歯周組織検査を行い、6 点法のプロービングポケット深さ、及びアタッチメントレベルを測定し、レントゲン写真から骨吸収の度合いを測定した。得られた臨床データに対して上清中の IL-17、IL-23 産生量を統計学的に処理し、比較検討した。

4. 研究成果

P. gingivalis LPS, *A. actinomycetemcomitans* LPS, CpG のどの歯周病原細菌因子も単核球からの IL-23 産生を増強した。その中でも *A. actinomycetemcomitans* LPS 刺激による IL-23 産生量をもっとも高かった。また、健康者末梢血と歯周炎患者末梢血から得た単核球を *A. actinomycetemcomitans* LPS にて刺激し、IL-23 産生量を比較したところ、歯周炎患者からの単核球のほうが高い IL-23 産生量を示した。また、IL-23 産生量と、歯周ポケット深さ、骨吸収度の歯周疾患重症度を比較検討したところ、両者の間には統計学的に有意な相関はみられなかった。

これらの結果から、固体の単核球からの IL-23 産生量は、*A. actinomycetemcomitans* LPS により増強されること、しかしながら IL-23 産生量は歯周病の重症度には直接関与していない可能性が示唆された。

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 3 件)

1, Regulatory roles of β -catenin and AP-1 on osteoprotegerin production in interleukin-1 α -stimulated periodontal ligament cells. Tomonari Suda, Toshiyuki Nagasawa, Narawat Wara-aswapati, Hiroaki Kobayashi, Kengo Iwasaki, Reiko Yashiro, Doosadee Hormdee, Hiroshi Nitta, Isao Ishikawa, Yuichi Izumi. Oral Microbiol Immunol 24(5)384-389. 2009

2, Periodontitis and cardiovascular diseases: The link and relevant mechanisms. Yuichi Izumi, Toshiyuki Nagasawa, Makoto Umeda, Hiroaki kobayashi, Yasuo Takeuchi, Reiko Yashiro, Doosadee Hormdee, Tomonari Suda, Yuka Ushida, Nawarat Wara-aswapati. Japanese Dental Science Review 45:98-108, 2009

3, Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E2 is involved in vascular endothelial growth factor production in interleukin-1 α -stimulated human periodontal ligament cells. Yukiko Bando, Kazuyuki Noguchi, Hiroaki Kobayashi, Naoki Yoshida, Isao Ishikawa, Yuichi Izumi. J Periodont Res 44(3)395-401, 2009

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

特記事項無し

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・大学院医歯学総合研究
科・助教

研究者番号：50396967

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし